



**Olga Maria  
Martins Saraiva**

**Malária: Incidência no Distrito de Aveiro**



**Olga Maria  
Martins Saraiva**

## **Malária: Incidência no Distrito de Aveiro**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular e Celular, realizada sob a orientação científica da Dr.<sup>a</sup> Manuela Luís, Técnica Especialista de 1<sup>a</sup> Classe de Análises Clínicas e Saúde Pública e co-orientação da Prof. Doutora Adelaide Almeida, Professora do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

## **o júri**

presidente

**Professora Doutora Maria Helena Abreu Silva**

Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

**Doutor António de Bastos Marques Rodrigues**

Médico Especialista de Patologia Clínica

**Doutora Maria Manuela Rodrigues Luís**

Técnica Especialista de 1ª Classe de Análises Clínicas e Saúde Pública  
Orientadora

**Professora Doutora Adelaide Almeida**

Professora do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro  
Co-orientadora

## **agradecimentos**

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora Dra. Manuela Luís e à co-orientadora Professora Doutora Adelaide Almeida, pela oportunidade que me deram de realizar este trabalho e por acreditar nas minhas capacidades, por todos os conhecimentos transmitidos.

Quero agradecer aos meus colegas do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Infante Dom Pedro, pelo entusiasmo que demonstraram.

Agradeço em primeiro lugar à Vanda e à Raquel por todo apoio que me deram durante a realização da tese. Quero agradecer ainda à Filomena, ao Zé, à Elsa e à Fernanda, pelo apoio demonstrado.

Quero agradecer ainda à minha família, especialmente ao meu irmão e pais por todo o apoio e confiança prestados. Ao meu marido pela inspiração e motivação constante. Foram eles os responsáveis pelo começo da minha caminhada.

A todos os que fizeram deste trabalho uma realidade...Obrigada!

## palavras-chave

Malária, Região de Aveiro, *Anopheles*, *Plasmodium*, Diagnostico Laboratorial, Sintomatologia.

## resumo

A malária representa um grave problema, não só em termos de saúde pública, mas também ao nível do desenvolvimento cultural e sócio-económico. A malária é uma doença infecciosa, causada por um protozoário do género *Plasmodium* e é transmitida naturalmente ao hospedeiro humano por picada da fêmea do mosquito do género *Anopheles* infectado. As espécies de parasitas que podem infectar os humanos e causar malária são quatro: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* e *P. malariae*, sendo a espécie *P. falciparum* a mais patogénica, causando doença grave. A forma grave da doença pode ter complicações cerebrais, hepáticas, renais, circulatórias e hematológicas. Atendendo às alterações climáticas ocorridas nos últimos anos e ao aumento de viajantes para zonas endémicas bem como ao facto que no passado a Região de Aveiro já foi afectada pela malária, é importante estudar a incidência de malária na Região de Aveiro, avaliando a sua evolução, de modo a evitar o ressurgimento da malária. Este trabalho teve como objectivo avaliar a incidência de malária no distrito de Aveiro, caracterizar a população afectada e relacionar os casos positivos de malária com alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos. O diagnóstico de malária foi feito em pacientes do Hospital Infante D. Pedro de Aveiro (HIDP), durante o período de Janeiro de 2005 a Janeiro de 2009. Durante este período foram diagnosticados dez casos clínicos positivos de malária. A suspeita de malária ocorreu quando o paciente apresentava sintomas da doença (febre, vômitos, náuseas, mal-estar, diarreia, entre outros), associados a viagens recentes a países onde a malária é endémica. O diagnóstico laboratorial foi feito através da observação de *Plasmodium* no esfregaço de sangue periférico (ESP) e da realização de exames bioquímicos e hematológicos. Os resultados laboratoriais obtidos revelaram alterações a nível hepático e hematológico com observação de parasitas de *Plasmodium*, nomeadamente de *P. falciparum*. Os níveis de alanina aminotransferase (ALT), de aspartato aminotransferase (AST), de bilirrubina total (BILT) e de desidrogenase láctica (LDH), foram, de um modo geral, superiores aos valores de referência. Pelo contrário, os níveis de hemoglobina (Hb), de glóbulos vermelhos (GV) e plaquetas (PLT) apresentaram valores mais baixos que os valores de referência. De um modo geral, em estádios mais avançados da doença verificou-se uma maior alteração dos parâmetros bioquímicos e hematológicos bem como uma maior parasitémia, podendo nestas situações serem mesmo observadas formas de esquizontes e gametócitos. Conclui-se que os casos de malária detectados neste estudo foram importados de países endémicos para esta doença, nomeadamente de África, não se tendo verificado nenhum caso de transmissão em Portugal.

## keywords

Malaria, Aveiro Region, *Anopheles*, *Plasmodium*, Diagnostic Laboratory, Symptomatology.

## abstract

The Malaria is a serious problem not only for public health, but also for the cultural and socio-economic development. The Malaria is an infectious disease caused by a protozoan of the genus *Plasmodium* and is transmitted naturally to the human host through the infected female mosquito bite of the *Anopheles* genus. Parasites species that can infect humans and cause malaria are four: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* and *P. malariae*, being *P. falciparum* specie the most pathogenic, causing severe illness. The severe form of the disease can lead to brain, liver, kidney and circulatory system complications as well as hematologic alterations. Given the climatic changes that have occurred in recent years and the increase of travellers to endemic areas as well as the fact that in the past the Aveiro Region has been affected by malaria, it is important to examine the incidence of malaria in Aveiro, evaluating its development, so as to prevent the resurgence of malaria. This study has the objective to evaluate the incidence of Malaria in the Aveiro Region, characterize the affected population, relate the malaria positive cases to hematologic and biochemical parameter alterations. The diagnostic was realized in Hospital Infante D. Pedro (HIDP) in Aveiro patients, during the period from January 2005 to January 2009. During this period ten positive clinical cases for Malaria were diagnosed. Malaria suspicion occurs when the patient shows illness symptoms (chills, fever, muscle pain and splenomegaly) associated with recent travel to countries where Malaria is endemic. The diagnostic was realized through plasmodium observation in peripheral blood smear and with haematological and biochemical tests. The laboratory test results reveal changes in liver function, blood count and *Plasmodium* parasites observation, particularly *P. falciparum* in the peripheral blood smear. The Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Aminotransferase, (ALT) Total Bilirrubins (BILT) and Lactic Dehydrogenase (LDH) levels were generally higher when compared to normal values. In the other hand, the haemoglobin (Hb), red cells (GV) and platelets (PLT) values were lower than the reference levels. Generally, in advanced stages of the disease a higher alteration of the biochemical and hematologic parameters was found, as well as a higher parasite percentage. Forms like schizonts and gametocytes may be found in this situation. We concluded that this Malaria cases were imported from endemic zones, namely Africa, and there weren't transmission cases in Portugal.

# ÍNDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>iii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>ivi</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
1.1. A Malária: dos primórdios aos nossos dias .....	11
1.2. Epidemiologia.....	12
1.3. Enquadramento da Malária no Desenvolvimento Sócio-Económico .....	15
1.3.1. Relação entre a Pobreza e a Malária .....	16
1.3.2. A Malária e o Desenvolvimento Cognitivo .....	17
1.4. Transmissão da Malária .....	18
1.4.1. Transmissão Natural.....	19
1.4.2. Transmissão Induzida.....	20
1.5. Ciclo de Vida do Plasmodium .....	21
1.5.1. <i>Plasmodium vivax</i> .....	24
1.5.2. <i>Plasmodium falciparum</i> .....	27
1.5.3. <i>Plasmodium malariae</i> .....	31
1.5.4. <i>Plasmodium ovale</i> .....	34
1.6. Patogenia e Quadro Clínico .....	37
1.7. Medidas Preventivas .....	38
1.7.1. Medicação Profiláctica: Anti-Maláricos .....	38
1.7.2. Medidas de Protecção Individual .....	39
1.7.3. Medidas de Protecção Ambiental .....	39
1.8. Tratamento .....	40
1.8.1. Medicamentos Anti-Maláricos.....	40
1.8.2. Resistências aos Medicamentos Anti-Maláricos .....	41
1.8.3. Perspectivas Futuras.....	42
1.9. Técnicas de Diagnóstico Laboratorial.....	43
1.9.1. Gota Espessa .....	43
1.9.2. Esfregaço de Sangue Periférico .....	44
1.9.3. Microscopia de Fluorescência .....	45
1.9.4. Método Quantitativo do Buffy Coat.....	46
1.9.5. Testes Imunológicos .....	46
1.9.6. Reacção da Polimerase em Cadeia .....	47
1.10. Objectivos do Trabalho .....	47
<b>2. METODOLOGIA.....</b>	<b>50</b>
2.1. População em Estudo .....	50

2.2.	Colheita de Sangue.....	50
2.3.	Exames Laboratoriais .....	50
2.3.1.	Procedimento da execução do E.S.P. e da coloração de Giemsa .....	52
3.	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>56</b>
3.1.	Dados epidemiológicos.....	56
3.2.	Caracterização da população com sintomas de malária .....	58
3.3.	Resultados hematológicos e bioquímicos dos casos clínicos positivos .....	60
4.	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>82</b>
5.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>86</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADN</b> - Ácido Desoxirribonucleico	<b>UR</b> - Ureia
<b>ALT</b> - Alanina Aminotransferase	
<b>ASS</b> - África Sub-Saariana	
<b>AST</b> - Aspartato Aminotransferase	
<b>BILT</b> - Bilirrubina Total	
<b>CR</b> - Creatinina	
<b>DDT</b> - Diclorodifeniltricloroetano	
<b>DEET</b> - Dietiltoluidamida	
<b>D0</b> - Dia de entrada do paciente no HIDP	
<b>D1/D2/D3/D4/D5</b> - Dias de internamento/entrada posterior a D0 do paciente no HIDP	
<b>EDTA</b> - Ácido Etilenodiaminotetracético	
<b>ELISA</b> - Enzyme-Linked Immunosorbent assay	
<b>ESP</b> - Esfregaço de Sangue Periférico	
<b>GSK</b> - GlaxoSmithKline	
<b>GV</b> - Glóbulos Vermelhos	
<b>Hb</b> - Hemoglobina	
<b>HIDP</b> - Hospital Infante D. Pedro	
<b>HPR 2</b> - Proteína 2-rica em histidina	
<b>HUC</b> - Hospitais da Universidade de Coimbra	
<b>LDH</b> - Desidrogenase Láctica	
<b>MVI</b> - Malaria Vaccine Initiative	
<b>OMS</b> - Organização Mundial de Saúde	
<b>PCR</b> - Polymerase Chain Reaction	
<b>PIB</b> - Produto Interno Bruto	
<b>PLT</b> - Plaquetas	
<b>SAM</b> - Sistema de Apoio ao Médico	
<b>SU</b> - Serviço de Urgência	

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribuição mundial da malária (Sachs et al., 2002).....	14
<b>Figura 2.</b> Distribuição mundial da malária per capita (Sachs et al., 2002). ....	16
<b>Figura 3.</b> Via mais comum de transmissão da malária: picada da fêmea do mosquito <i>Anopheles</i> (Vale, 2003).....	20
<b>Figura 4.</b> Ciclo de vida do parasita da malária humana (Vale, 2005).....	21
<b>Figura 5.</b> Trofozóitos jovens em forma de anel de <i>P. vivax</i> (Coatney et al., 1971). ....	24
<b>Figura 6.</b> Trofozóitos maduros de <i>P. vivax</i> . (Coatney et al., 1971). ....	25
<b>Figura 7.</b> Esquizontes de <i>P. vivax</i> (Coatney et al., 1971). ....	26
<b>Figura 8.</b> Gametócitos de <i>P. vivax</i> (Coatney et al., 1971). ....	27
<b>Figura 9.</b> Trofozóitos jovens em forma de anel de <i>P. falciparum</i> (Coatney et al., 1971)..	28
<b>Figura 10.</b> Trofozóitos maduros de <i>P. falciparum</i> (Coatney et al., 1971).....	29
<b>Figura 11.</b> Esquizontes de <i>P. falciparum</i> (Coatney et al., 1971). ....	30
<b>Figura 12.</b> Gametócitos de <i>P. falciparum</i> (Coatney et al., 1971). ....	31
<b>Figura 13.</b> Trofozóitos jovens em forma de anel de <i>P. malariae</i> (Coatney et al., 1971). ...	32
<b>Figura 14.</b> Trofozóitos maduros de <i>P. malariae</i> (Coatney et al., 1971). ....	32
<b>Figura 15.</b> Esquizontes de <i>P. malariae</i> (Coatney et al., 1971). ....	33
<b>Figura 16.</b> Gametócitos de <i>P. malariae</i> (Coatney et al., 1971).....	33
<b>Figura 17.</b> Trofozóitos jovens em forma de anel de <i>P. ovale</i> (Coatney et al., 1971) .....	35
<b>Figura 18.</b> Trofozóitos maduros de <i>P. ovale</i> (Coatney et al., 1971) .....	35
<b>Figura 19.</b> Esquizontes de <i>P. ovale</i> (Coatney et al., 1971). ....	36
<b>Figura 20.</b> Gametócitos de <i>P. ovale</i> (Coatney et al., 1971) .....	36
<b>Figura 21.</b> Procedimento esquematizado da execução do E.S.P. ....	52
<b>Figura 22.</b> ESP do caso clínico número 1.....	61
<b>Figura 23.</b> ESP do caso clínico número 2.....	62
<b>Figura 24.</b> ESP do caso clínico número 3.....	64
<b>Figura 25.</b> ESP do caso clínico número 4.....	66
<b>Figura 26.</b> ESP do caso clínico número 5.....	68
<b>Figura 27.</b> ESP do caso clínico número 6.....	70

<b>Figura 28.</b> ESP do caso clínico número 7.....	72
<b>Figura 29.</b> ESP do caso clínico número 8.....	74
<b>Figura 30.</b> ESP do caso clínico número 9.....	76
<b>Figura 31.</b> ESP do caso clínico número 10.....	78

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Evolução dos pedidos de hemogramas sem pesquisa de <i>Plasmodium</i> em relação ao pedido de hemogramas com pesquisa de <i>Plasmodium</i> nos quatro anos do estudo.....	56
<b>Gráfico 2:</b> Percentagem dos hemogramas com pesquisa de <i>Plasmodium</i> positiva.....	57
<b>Gráfico 3:</b> Evolução do número de casos positivos de malária durante os quatro anos do estudo.....	57
<b>Gráfico 4:</b> Estudo da população relativamente às idades. ....	58
<b>Gráfico 5:</b> Estudo dos 10 casos positivos para a pesquisa de <i>Plasmodium</i> relativamente às idades. ....	58
<b>Gráfico 6:</b> Número de casos com pesquisa de <i>Plasmodium</i> positiva, com alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos.....	80
<b>Gráfico 7:</b> Formas do parasita observadas no ESP.....	80

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Diferenciação morfológica das espécies de parasitas da malária.....	37
<b>Tabela 2.</b> Métodos dos equipamentos: Pentra 120 e Dimension Rxl.....	51
<b>Tabela 3.</b> Sintomatologia dos doentes com <i>Plasmodium</i> .....	59
<b>Tabela 4.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 1.....	60
<b>Tabela 5.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 2.....	62
<b>Tabela 6.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 3.....	64
<b>Tabela 7.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 4.....	66
<b>Tabela 8.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 5.....	68
<b>Tabela 9.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 6.....	70
<b>Tabela 10.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 7.....	72
<b>Tabela 11.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 8.....	74
<b>Tabela 12.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 9.....	76
<b>Tabela 13.</b> Resultados analíticos do caso clínico número 10.....	78



**Capitulo 1**  
**INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

A Malária, também conhecida por paludismo é uma doença infecciosa potencialmente grave, causada por parasitas unicelulares do filo Apicomplexa, classe Esporozoa, subordem Haemosporina e género *Plasmodium* (Ferreira, 1982). É transmitida ao ser humano pela picada da fêmea do mosquito do género *Anopheles* (Sachs et al., 2002; Braga et al., 2004; Buitrago, 2004; Hay et al., 2004).

O género *Plasmodium* apresenta uma variedade de espécies, porém só quatro são capazes de infectar o ser humano: *P. vivax* (terça benigna), *P. malariae* (febre quartã), *P. falciparum* (terça maligna) e *P. ovale* (terça benigna) (Coatney et al., 1971; Ferreira, 1982; Schlesinger et al., 1988; Forbes et al., 1998; Rosas, 2003; Theml, 2004). Os mais frequentes são o *P. vivax* e o *P. falciparum*, sendo esta última a espécie que determina um elevado risco de mortalidade na população, devido à sua capacidade de infectar os glóbulos vermelhos (GV) em qualquer fase do ciclo de vida desta célula, produzindo assim uma elevada percentagem de parasitémia. Enquanto que outras espécies, produzem uma menor morbilidade e mortalidade, uma vez que, apenas só são capazes de infectar eritrócitos jovens, caso do *P. vivax* e *P. ovale*, ou velhos, caso do *P. malariae* (Ferreira, 1982; Braga et al., 2004; Cerezo, 2009). As formas graves da doença, podem afectar o cérebro. A disfunção cerebral pode originar uma redução da consciência, delírio, cansaço mental ou anormalidades neurológicas, apresentando um bom prognóstico desde que o tratamento não seja retardado. O acometimento cerebral está tipicamente relacionado com *P. falciparum*, por apresentar maior capacidade de proliferação. Os eritrócitos portadores destes parasitas tendem a aderir entre si e ao revestimento dos vasos sanguíneos provocando o bloqueio de capilares em zonas vitais, tais como, o cérebro, rins e pulmões (Faust, 1975).



### **1.1. A Malária: dos primórdios aos nossos dias**

As manifestações clínicas da malária embora sejam descritas (Faust, 1975) nas referências de medicina como muito graves, o conhecimento das devastações provocadas por esta doença ocorreram somente em 1880. O médico Charles Laveran, na Argélia, observou e descreveu pela primeira vez, parasitas da malária no interior de GV humanos, em preparações microscópicas frescas (Faust, 1975) . Em 1898, o médico Ronald Ross, na Índia, descobriu o modo de transmissão desta doença, ao encontrar formas do parasita da malária no interior de um mosquito que se tinha alimentado de um portador da doença. Durante o período de 1898-1899, Bignami, Bastianelli e Grassi (Hay et al., 2004), mostraram o ciclo completo de desenvolvimento do parasita da malária no homem e na fêmea do mosquito *Anopheles*. As experiências realizadas neste âmbito, levaram à conclusão definitiva de que a malária é transmitida pela fêmea do mosquito *Anopheles* (Faust, 1975). Descobriu-se ainda que a malária humana é causada por quatro espécies de *Plasmodium*, às quais foram atribuídos diferentes nomes. Estas espécies foram descobertas à medida que os estudos foram prosseguindo. Golgi (1886) descreveu pela primeira vez com rigor o parasita da febre terçã, Grassi e Feletti (1890) atribuíram a esta espécie o nome *P. vivax*, e *P. malariae* ao parasita da febre quartã, enquanto Welsh (1897) designou por *P. falciparum* a espécie que tem os gametócitos em forma de crescente. Stephens (1922) descreveu e deu o nome ao quarto parasita da malária humana *P. ovale* (Faust, 1975).

Actualmente, a nível mundial tem-se verificado, um aumento significativo desta doença. Este aumento pode ser derivado de várias causas, incluindo, sistema de saúde deficiente em países pobres, resistência a medicamentos anti-maláricos, mudanças climáticas que têm conduzido a um aquecimento global, aumento da migração ou mesmo turismo nos últimos anos (Sachs et al., 2002).

Tem sido observado, com alguma frequência, casos de malária importados a partir de zonas endémicas, o que torna esta patologia um problema mundial. A facilidade de mobilidade humana transforma-se numa ameaça de malária como doença reemergente na Europa (Rosas, 2003). Com o crescimento da população em zonas

endémicas, estima-se que na ausência de estratégias eficazes contra esta doença, ocorra uma duplicação de números de casos de malária nos próximos anos (Sachs et al., 2002; Braga et al., 2004).

## **1.2. Epidemiologia**

A incidência da malária não é uniforme, geralmente ocorre em zonas próximas de florestas e águas paradas onde reside o mosquito *Anopheles* e em zonas onde habitam pessoas infectadas (Braga et al., 2004). A prevalência da malária em determinadas zonas depende ainda de outros factores, tais como: frequência com que os mosquitos picam o ser humano, duração média de vida dos transmissores, tempo requerido para que se complete o ciclo esporogónico no vector (variável com a espécie de *Plasmodium* e com a temperatura) e proporção de indivíduos susceptíveis (Sachs et al., 2002; Braga et al., 2004; Hay et al., 2004). A nível mundial a malária está centralizada nas regiões tropicais, podendo abranger regiões subtropicais (Sachs et al., 2002). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) a zona endémica da malária abrange cerca de 2,2 bilhões de pessoas no mundo, afectando aproximadamente 90 países (África, América, Ásia), sendo que 90% destes casos ocorrem em África Sub-Saariana (ASS), onde a doença representa obstáculos importantes ao desenvolvimento económico e social. A malária já existiu mas foi erradicada no século XX na região mediterrânea, incluindo países do sul da Europa, como Portugal continental, Espanha, Itália, entre outros países (Sachs et al., 2002; Rosas, 2003; Braga et al., 2004; Hay et al., 2004). Na Europa, ocorrem anualmente mais de dez mil casos importados de pessoas que visitaram países tropicais ou subtropicais (Rosas, 2003; Braga et al., 2004).

A malária afecta anualmente 300 a 500 milhões de pessoas (Sachs et al., 2002), causando entre 1 a 3 milhões de mortes por ano, a grande maioria crianças com menos de 5 anos de idade. Segundo a OMS, a malária mata uma criança africana a cada 30 segundos, e muitas crianças que sobrevivem a episódios de paludismo severos podem

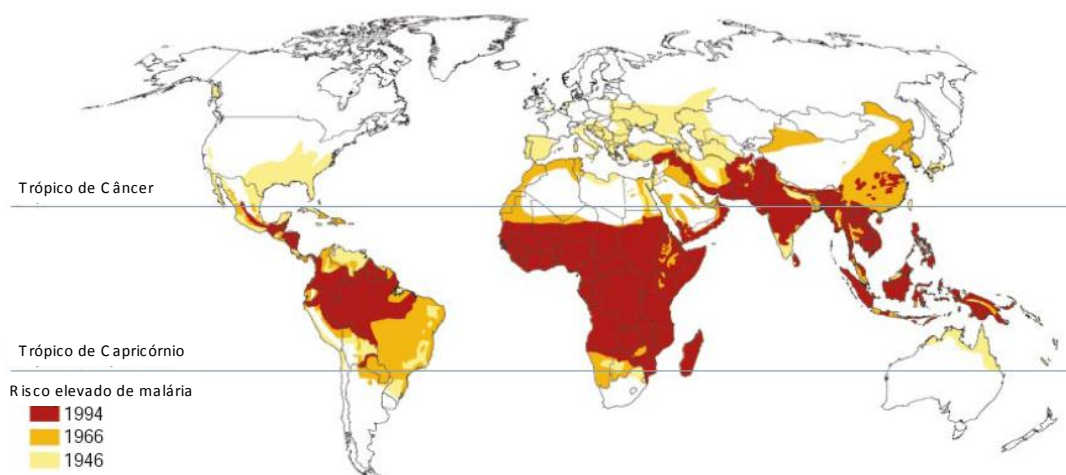
sofrer lesões cerebrais graves, apresentando dificuldades de aprendizagem (Sachs et al., 2002).

São várias as razões que fazem com que ocorra uma elevada incidência de malária na África. Na ASS, a maior parte das infecções por paludismo são causadas pelo *P. falciparum*, a forma mais grave e mortal da doença, e esta mesma região alberga também a mais eficiente, e por isso, a mais mortal, variedade de mosquitos transmissores da doença – *Anopheles gambiae* (Sachs et al., 2002; Hay et al., 2004). Além disso, muitos países africanos não têm as infra-estruturas nem os recursos necessários para fazer campanhas anti-paludismo sustentáveis e, por isso, poucos beneficiam dos esforços para erradicar esta doença (Sachs et al., 2002; Hay et al., 2004). A temperatura é também um factor predominante na distribuição geográfica da doença (Sachs et al., 2002). A transmissão através do mosquito torna-se menos eficaz abaixo dos 18°C e, em muitos casos, os parasitas da malária não conseguem completar o seu ciclo de vida abaixo dos 16°C. Mais ainda, o mosquito pode suspender a alimentação por picada a baixas temperaturas e, por isso, verifica-se uma maior incidência em regiões tropicais (Sachs et al., 2002). Outras características climáticas, como a chuva e a humidade, também afectam a estabilidade da transmissão (Sachs et al., 2002).

No Brasil, a malária também é endémica em áreas como a Amazónia, porém em alguns estados do nordeste, como no Ceará, esta doença ocorre em zonas não endémicas, (Braga et al., 2004) ou seja, pode surgir novos casos de malária em zonas não endémicas a partir de casos de malária importados. Nesta região a malária é transmitida pelo vector *Anopheles aquasilis* (Braga et al., 2004). A dificuldade de acesso do mosquito a hospedeiros mantém a região longe da endemia. Contudo, a existência deste mosquito no estado do Ceará, transforma-o numa zona potencial para a disseminação da endemia se os casos importados não forem contidos rapidamente (Braga et al., 2004).

A distribuição geográfica da malária sofreu uma alteração a nível mundial entre 1946 e 1994 (Sachs et al., 2002). Nas regiões temperadas, as medidas anti-malária foram um sucesso, fazendo com que a transmissão diminuísse, o que não aconteceu nas regiões tropicais e subtropicais em que os esforços para erradicar o parasita resultaram

repetidamente em fracasso. Deste modo, verificou-se um aumento da concentração da doença nestas zonas (Sachs et al., 2002) (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição mundial da malária (Sachs et al., 2002).

Em Portugal Continental na década de 50 surgiram casos de malária transmitida por *Anopheles* (Sachs et al., 2002). As regiões com mais incidência de malária foram as zonas pantanosas (bacias do Tejo, Sado, Mondego e Vouga) (d'Eça, 1903). Relativamente ao distrito de Aveiro, no século XVI, nomeadamente no Inverno de 1575, que foi excepcionalmente rigoroso levando ao fecho da barra e, conseqüentemente, aumento das zonas pantanosas, a febre malárica aumentou muito. A população decresceu nesta altura de 12.000 para 4.000 habitantes (d'Eça, 1903). No entanto, em Portugal nunca houve uma situação catastrófica permanente como em África, porque o clima frio não permitiu a multiplicação de um número suficiente de mosquitos. Por outro lado, os programas de erradicação da doença lançados pela OMS para as regiões endémicas (desenvolvimento de insecticidas, como o diclorodifeniltricloroetano (DDT), ou de fármacos anti-maláricos sintéticos) contribuíram para que, em meados da década de 70, o risco da doença tenha diminuído ou erradicado em áreas malarígenas. No início da década de 80 a situação voltou a agravar-se, tendo o parasita ressurgido em zonas onde havia estado praticamente extinto, ocorreu um aumento de casos clínicos em quase todo

o mundo, com excepção da Europa e América do Norte. Verificou-se assim que o programa lançado pela OMS tinha falhado (Ferraz, 2002).

Actualmente, não há transmissão de malária em Portugal, os casos actuais são importados, principalmente de África. No entanto alguns estudos efectuados (Patz et al., 1996) revelam que até ao ano de 2100 poderá haver um aumento das temperaturas médias globais de 2°C, aumentando assim a probabilidade do vector da malária ressurgir em novas áreas o que contribuirá para a disseminação da doença (Patz et al., 1996; Githeko et al., 2000; McMichael, 2001; Capinha et al., 2009). Por outro lado existe a preocupação de conter os casos importados de malária, uma vez que estes têm vindo a aumentar na Europa (Portugal Continental e Itália) ao longo dos anos (Romi et al., 2001). A existência do mosquito *Anopheles atroparvus* (com importância na incidência da doença) em Portugal Continental, transforma-o numa zona potencial para a disseminação da epidemia se os casos importados não forem contidos rapidamente (Capinha et al., 2009). Foram realizados estudos que descrevem a actual distribuição desta espécie de vector, do qual conclui-se que o *Anopheles atroparvus* está distribuído por todo o país excepto a zona norte e litoral centro (Capinha et al., 2009). O complexo de espécies do *Anopheles. maculipennis* (do qual faz parte o *Anopheles atroparvus*), na década de 50 estava distribuído por todo o país, incluído a Região de Aveiro (Braga, 1931). O aquecimento global que se tem vindo a registar poderá criar condições propícias para a multiplicação de um número suficiente de mosquitos, podendo mesmo permitir que o ciclo esporogónico do parasita se complete. (Capinha et al., 2009).

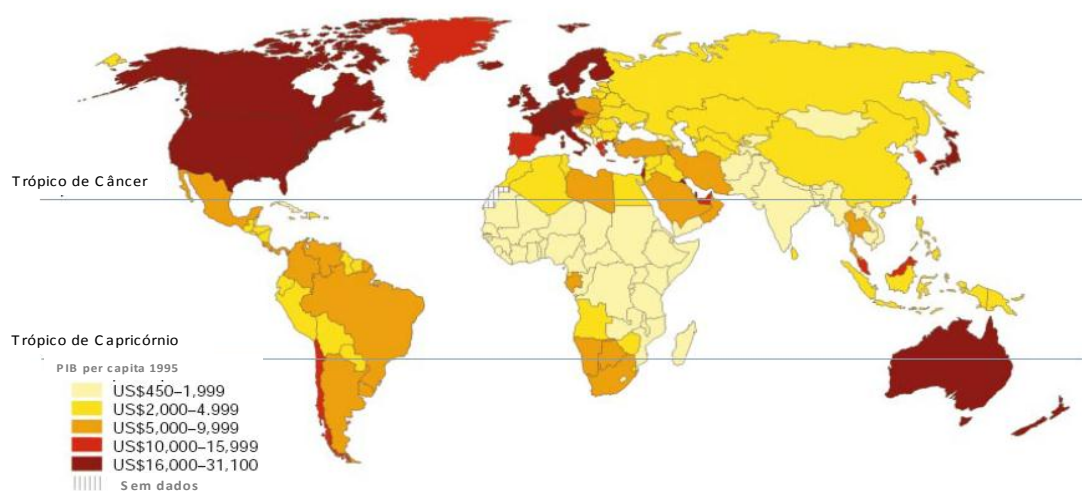
### **1.3. Enquadramento da Malária no Desenvolvimento Sócio-Económico**

A malária é uma das doenças mais importantes para a humanidade, devido ao seu impacto e custos, constituindo um fardo extremamente pesado para as populações dos países atingidos, principalmente para África, incomparável aos custos sociais de qualquer doença ocidental (Sachs et al., 2002). A grande incidência de malária em vários países

impede o seu desenvolvimento por vários motivos, tem efeitos na fertilidade, no crescimento populacional, na poupança e investimento, na produtividade dos trabalhadores, no absentismo, na mortalidade prematura e são altos os custos médicos (Sachs et al., 2002).

### 1.3.1. Relação entre a Pobreza e a Malária

Quando a incidência da malária é elevada a sociedade humana prospera menos. A distribuição mundial per capita do Produto Interno Bruto (PIB) em 1995, ajustado para o poder de compra, mostra uma notória correlação entre a pobreza e a malária (Figura 2); países com alta incidência de malária reflectem taxas mais baixas de crescimento económico (Sachs et al., 2002).



**Figura 2.** Distribuição mundial da malária per capita (Sachs et al., 2002).

A pobreza está concentrada nas regiões tropicais e subtropicais, as mesmas onde há uma maior incidência de transmissão da malária. A comparação de rendimentos em países com alta incidência da malária e países com ausência desta doença indica que a média do PIB (ajustados a paridade de poder de compra) em países com malária em 1995 foi menor em comparação com países que a doença está ausente. Entre 1965 e 1990, nos países em

que existia uma grande proporção de população que viviam em regiões onde o *P. falciparum* predominava, obteve um crescimento médio em PIB per capita de 0,4% por ano, enquanto o crescimento médio nos outros países foi de 2,3 % por ano (Sachs et al., 2002). Esta correlação pode, evidentemente, ser explicada de diversas maneiras, ou seja, a pobreza pode promover a transmissão da malária assim como a doença pode causar a pobreza impedindo o crescimento económico. Também é possível que esta correlação seja parcialmente falsa, o clima tropical pode causar a pobreza através de razões alheias à malária. Embora haja a tendência de favorecer a explicação causalidade que é executada em ambos os sentidos (Sachs et al., 2002). É certamente verdade que a pobreza pode ser ocasionada e registada em determinadas regiões pobres onde os níveis de transmissão de malária são elevados. Gastos pessoais em métodos de prevenção tais como insecticidas, medidas governamentais de controlo da malária, o desenvolvimento geral, bem como uma maior urbanização pode reduzir a transmissão da malária (Sachs et al., 2002; Hay et al., 2004). A ausência desta doença em países mais desenvolvidos, a partir 1960 (referenciado no mapa anterior), como a Itália e Espanha, deve-se em grande parte ao desenvolvimento sócio-económico e ao intenso programa anti-malária. São exemplos destas medidas a melhoria da habitação, em especial a disponibilização de portas e janelas que limita o contacto humano com o mosquito; pulverização de insecticidas, entre outros (Sachs et al., 2002; Hay et al., 2004). Contudo, o desenvolvimento económico por si só não é suficiente. Mesmo em países desenvolvidos, que apresentam temperaturas elevadas durante todo o ano, como Oman e Emirados Árabes Unidos, tem sido incapaz de eliminar a doença (Sachs et al., 2002).

### **1.3.2.A Malária e o Desenvolvimento Cognitivo**

As crianças são os principais alvos da morbidade e mortalidade desta patologia. Apesar desta morbidade afectar mais crianças em idade pré-escolar, as crianças em idade escolar também são afectadas resultando em absentismo escolar. Este facto tem como

consequência um aumento do impacto da malária no desenvolvimento cognitivo e na capacidade de aprendizagem (Sachs et al., 2002).

A malária cerebral afecta aproximadamente 575.000 crianças por ano em África, matando 10-40% dos pacientes. Dos que sobrevivem, 5-20% ficam com sequelas neurológicas, assim como dificuldade de execução de funções tais como planeamento e execução de tarefas (Sachs et al., 2002).

#### **1.4. Transmissão da Malária**

Ocorre transmissão da malária quando existem gametócitos na circulação sanguínea do homem, e estes são sugados pelo vector fêmea do mosquito *Anopheles* (Forbes et al., 1998; Rosas, 2003; Buitrago, 2004; Cerezo, 2009). A transmissão por transfusão pode ocorrer enquanto permanecer no sangue circulante formas assexuadas (Romi et al., 2001). O mosquito permanece infectante para toda a vida.

O período médio de incubação, ou seja, o tempo que medeia entre a inoculação dos esporozóitos na corrente sanguínea e o aparecimento dos primeiros sinais clínicos, dos quais a febre é o mais comum, varia com a espécie. É de 7-15 dias para *P. falciparum*, 12 a 18 dias para *P. vivax* e *P. ovale*, e 18 a 40 dias para *P. malariae*. Nos casos em que a causa de infecção é a transfusão sanguínea, o período de incubação é geralmente breve, mas varia de acordo com a parasitémia (Theml, 2004) .

Nas regiões equatoriais, existe uma transmissão permanente e frequente de propagação da malária, devido à estabilidade da temperatura e da humidade nestes locais. O ritmo de propagação da malária dá-se de acordo com as chuvas nas regiões tropicais, onde temos temperaturas praticamente invariáveis e inconstância nos índices de humidade. Nas regiões subtropicais, há períodos em que a temperatura desce muito, impedindo a actividade do vector e fazendo com que a transmissão do protozoário seja interrompida. A malária apresenta assim características diferentes de região para região e, por vezes de época para época (Sachs et al., 2002; Braga et al., 2004; Hay et al., 2004).



A malária pode ser transmitida naturalmente, através da picada do mosquito, ou pode ser transmitida artificialmente.

### **1.4.1. Transmissão Natural**

A malária é transmitida naturalmente por picada da fêmea do mosquito do género *Anopheles* (Figura 3) infectado, ou seja, portador de formas infectantes (esporozoitos) na sua glândula salivar (Forbes et al., 1998; Rosas, 2003; Buitrago, 2004; Cerezo, 2009). Estes mosquitos fêmeas alimentam-se de sangue e os machos vivem de seivas de plantas, apresentando uma grande capacidade de desenvolver resistências aos insecticidas (Rosas, 2003). As larvas desenvolvem-se em águas paradas. Não há malária em zonas desfavoráveis ao *Anopheles* como por exemplo a grande altitude ou temperaturas baixas (Rosas, 2003). O mosquito vector da malária só sobrevive em áreas que apresentem temperaturas superiores a 16 °C, sendo a temperatura óptima aproximadamente 30 °C. O aumento da temperatura geralmente faz com que o ciclo esporogónico ocorra mais rapidamente pelo que a temperatura assim como a humidade são factores de suma importância na transmissão da malária. A criação de barragens, escavações, a invasão de florestas, a degradação do meio ambiente são também exemplos de factores que aliados às condições de miséria e subnutrição, contribuem para o aumento destes insectos.

O género *Anopheles* compreende cerca de 400 espécies, das quais apenas um número reduzido tem importância para a epidemiologia da malária. Os mosquitos têm maior actividade durante o período da noite, do crepúsculo ao amanhecer. Contaminam-se ao picar os portadores da doença, tornando-se o principal vector de transmissão desta para outras pessoas (Sachs et al., 2002; Cerezo, 2009) .



**Figura 3.** Via mais comum de transmissão da malária: picada da fêmea do mosquito *Anopheles* (Vale, 2003).

### 1.4.2. Transmissão Induzida

Além da transmissão natural, existem outras formas de transmissão do *Plasmodium* nomeadamente a transmissão induzida. Nesta via de transmissão não é necessária a presença directa do vector. A transmissão é feita por transfusão de sangue contaminado (Buitrago, 2004) ou, mais dificilmente, por partilha de agulhas com sangue infectado por *Plasmodium* e por transmissão de mãe para filho (transmissão congénita) (Romi et al., 2001).

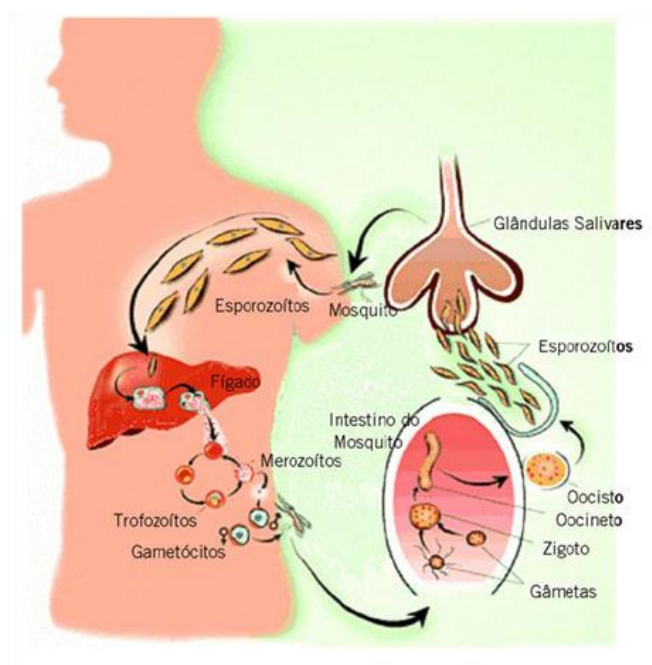
Foram realizados estudos que revelam que grande percentagem de dadores de sangue é portadora da doença o que leva a uma maior incidência desta patologia (Saez-Alquezar et al., 1998). A ocorrência de baixa parasitémia em indivíduos assintomáticos e o escasso conhecimento sobre a malária em áreas sem transmissão activa, podem ocasionar a transfusão de unidades de sangue ou hemocomponentes contaminados (Saez-Alquezar et al., 1998). A transmissão da malária por via transfusional foi descrita pela primeira vez em 1911. Bruce-Chwatt, em 1985, relata pelo menos 3500 casos num período de 65 anos. A incidência média de malária transfusional nos Estados Unidos de 1972 a 1981 foi de 0,25 casos por milhão de unidades de sangue recolhidas e na Itália de 1989-1997 ocorreram 7 casos (Saez-Alquezar et al., 1998; Romi et al., 2001). A transmissão de malária por transfusões ocorre normalmente através de sangue total e concentrado de hemácias, podendo ocorrer com menor frequência através de

concentrado de plaquetas, leucócitos, crioprecipitado e plasma fresco. Embora em determinados países como no Brasil, a incidência de malária transfusional seja desconhecida, este evento pode estar a contribuir para a disseminação da doença em áreas com transmissão activa. Para evitar a transmissão da malária pela via transfusional, por parte de indivíduos provenientes de áreas com transmissão activa deve-se padronizar uma triagem clínico-epidemiológica rigorosa adequada à situação de cada região (Saez-Alquezar et al., 1998) .

### 1.5. *Ciclo de Vida do Plasmodium*

Existem dois hospedeiros durante o ciclo de vida deste parasita, o homem que é considerado um hospedeiro intermediário e o mosquito como hospedeiro definitivo (Ferreira, 1982).

O ciclo de vida do *Plasmodium* (Figura 4) compreende duas fases, a fase sexuada (gametogonia) seguida de esporogonia que se desenvolve no mosquito e fase assexuada que se desenvolve no hospedeiro humano (esquizogonia), com produção dos gametócitos (Ferreira, 1982; Cerezo, 2009).



**Figura 4.** Ciclo de vida do parasita da malária humana (Vale, 2005).

O ciclo de vida do *Plasmodium* no ser humano inicia-se quando a fêmea do mosquito *Anopheles* infectado inocula os esporozóitos a partir de secreções salivares no tecido cutâneo do ser humano ocasionando infecção. Geralmente, os esporozóitos são delgados, curvos, com núcleo alongado e desprovido de pigmento. O seu corpo é revestido por duas membranas, abaixo das quais se dispõem microtúbulos, cuja quantidade varia de acordo com a espécie e que servem como órgãos de locomoção. Estes uma vez inoculados, deixam rapidamente o tecido cutâneo passando a circular na corrente sanguínea, onde permanecem livres durante cerca de meia hora. Seguidamente, os esporozóitos invadem as células do fígado, dando-se início à divisão assexuada do parasita (fase pré-eritrocítica). Os esporozóitos originam os trofozóitos pré-eritrocitários, estes transformam-se em esquizontes pré-eritrocíticos, que através de multiplicação assexuada, aumentam e produzem vários merozóitos, que são libertados para a corrente sanguínea devido ao rompimento do invólucro celular. Parte destes parasitas, são englobados por células fagocitárias e posteriormente destruídos, outra parte invade os GV da corrente sanguínea, onde tem início uma nova fase da reprodução assexuada. A fase pré-eritrocítica apresenta um tempo de duração variável, dependendo da espécie de *Plasmodium* (Ferreira, 1982; Cerezo, 2009). Alguns dos merozóitos libertados na fase pré-eritrocítica invadem os GV transformando-se em trofozóitos jovens (fase eritrocítica). Estes trofozóitos jovens apresentam-se no interior dos GV sob a forma de anel, com citoplasma e núcleo. O crescimento e alimentação destes parasitas processa-se à custa da célula, usando o oxigénio das hemácias e a hemoglobina destas células. A hemoglobina que não é metabolizada completamente, grupo heme, origina um resíduo designado por pigmento malárico que é composto por hematina e proteínas que se deposita em forma de grânulos escuros no citoplasma dos parasitas. O trofozóito desenvolve-se passando a trofozóito médio. Estes tornam-se amebóides dentro dos GV, a cromatina do trofozóito (material nuclear) fragmenta-se e o citoplasma começa a dividir-se. Cada porção é reorganizada com um fragmento de material nuclear. Estas formas provenientes dos trofozóitos, são designadas de esquizontes que por multiplicação assexuada produzem os merozóitos. Os eritrócitos infectados sofrem uma ruptura libertando os merozóitos maduros e também os produtos metabólicos para a corrente sanguínea. Nesta fase pode

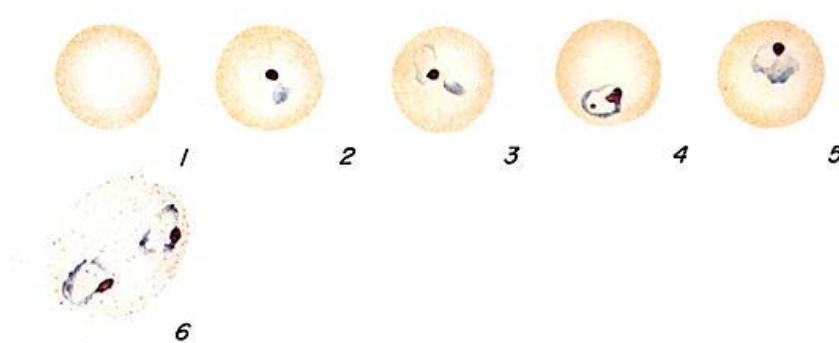
ocorrer uma libertação significativa de material tóxico na corrente sanguínea, levando a um agravamento dos sintomas da doença. Estes merozóitos invadem novos G.V não infectados, repetindo assim o ciclo assexuado. Nas fases iniciais da infecção ou numa infecção mista por duas espécies, a ruptura dos eritrócitos normalmente não é sincronizada, consequentemente a febre pode ser contínua ou diária em vez de intermitente. O crescimento do parasita altera os GV, ocorre dilatação ou contracção, modificação da membrana e possivelmente destruição. Depois de vários ciclos de esquizogonia eritrocítica sucessiva (ciclos assexuados), dá-se início à produção de estruturas sexuadas, denominadas gametócitos, que só se desenvolvem nos GV. Estas estruturas sexuadas são geradas pelos merozóitos durante a esquizogonia e não se multiplicam no organismo humano. Podem ser ingeridas por um mosquito hospedeiro conveniente e iniciarem neste a fase sexuada do *Plasmodium* (Ferreira, 1982). Dependendo da forma observada de *Plasmodium* no esfregaço pode-se identificar a fase do ciclo de desenvolvimento.

Os gametócitos maduros que circulam no sangue periférico humano são ingeridos pela fêmea do mosquito *Anopheles*, durante a sua alimentação dando início ao ciclo da fase sexuada no mosquito. As formas sexuais atingem o intestino do mosquito, onde irão fecundar o macrogametócito com o microgametócito dando origem a um zigoto ou ovo, o qual se transforma num oocineto móvel e posteriormente num oocisto (Cerezo, 2009). O oocisto desenvolve-se, produzindo um grande número de esporozóitos (formas infectantes para o humano), que migram para as glândulas salivares do mosquito sendo injectados no tecido cutâneo do ser humano por picada quando o mosquito suga o sangue para se alimentar, iniciando-se uma nova infecção (Cerezo, 2009). Um único mosquito consegue infectar muitas pessoas, causando o alastramento da doença. Esta fase designa-se de sexuada ou esporogónica (Ferreira, 1982; Cerezo, 2009).

### 1.5.1. *Plasmodium vivax*

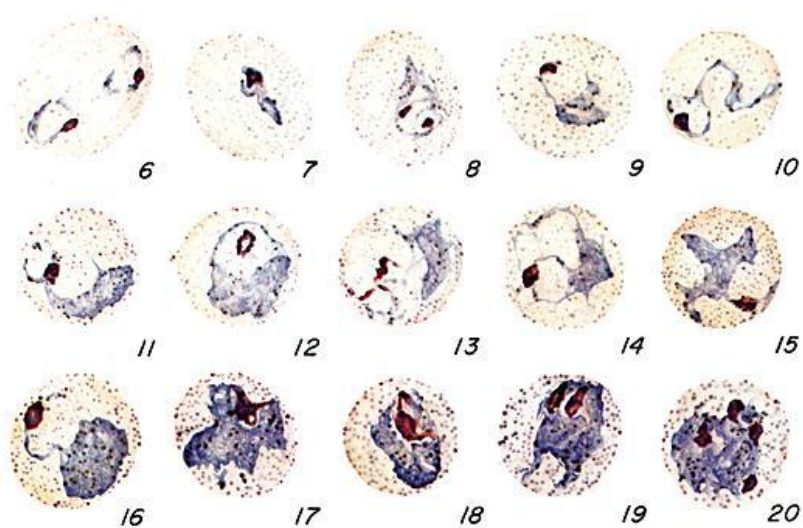
O *P. vivax*, é o agente da febre terça benigna, com um ciclo febril que retorna a cada 48 horas (Theml, 2004) . O *P. vivax*, é o parasita mais amplamente distribuído, sendo esta espécie indígena de climas mais temperados (Faust, 1975). No hospedeiro humano, as formas de *P. vivax* são as seguintes: esporozóitos, trofozóitos e esquizontes pré-eritrocíticos; trofozóitos, esquizontes e gametócitos eritrocíticos (Faust, 1975). Os esporozóitos do *P. vivax* são organismos pequenos, móveis, fusiformes, delgados, com extremidades arredondadas. Medem cerca de 14  $\mu\text{m}$  de comprimento (Faust, 1975). Durante a fase pré-eritrocítica o esporozóito é introduzido no homem pela picada do mosquito infectado. Seguidamente, o esporozóito afecta uma célula hepática, onde se transforma em trofozóito e mais tarde em esquizonte. Ao fim de cerca de 8 dias, o trofozóito atinge um diâmetro de 42  $\mu\text{m}$  e transforma-se em esquizonte e a partir destes serão gerados mais de 10 000 merozóitos. Por rotura da célula hospedeira parasitada, os merozóitos livres atingem a corrente sanguínea e invadem os GV, onde iniciam a infecção eritrocítica (Faust, 1975).

Na fase eritrocítica o merozóito invade os eritrócitos e transforma-se num trofozóito jovem em forma de anel, o qual contém um grande vacúolo e uma massa nuclear bem nítida (ponto de cromatina) (Figura 5), chamada fase do “anel de sinete”(Faust, 1975).



**Figura 5.** Trofozóitos jovens em forma de anel de *P. vivax* (Coatney et al., 1971).

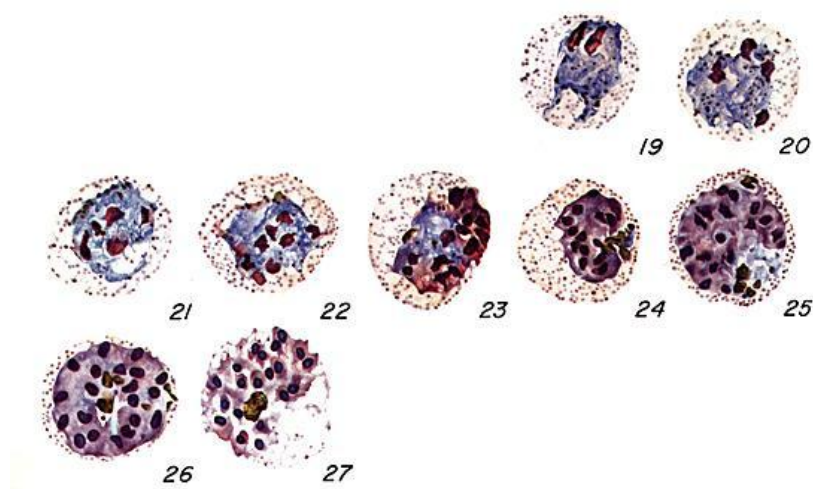
Durante a maturação do trofozoíto, o anel cresce e o seu citoplasma adquire movimentos amebóides e aumenta de volume à custa do eritrócito transformando-se no trofozoíto maduro. Observa-se nos esfregaços finos de sangue, corados por Giemsa, pequeníssimas pontuações de cor, no interior dos G.V. O aspecto amebóide do parasita torna-se a sua característica mais saliente, e o pigmento, no seu interior, aumenta consoante o seu tamanho e idade. Seguidamente, o núcleo começa a dividir-se. Os G.V infectados apresentam várias alterações: são normalmente maiores do que os não infectados, apresentam granulações laranja-avermelhadas chamadas grânulos de Schüffner e a multi-infecção dos G.V por esta espécie de parasita é pouco frequente (Figura 6) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).



**Figura 6.** Trofozoítos maduros de *P. vivax*. (Coatney et al., 1971).

Passadas 36 horas, toda a célula hospedeira se encontra ocupada pelo parasita que toma um aspecto arredondado, designada por esquizonte. Os esquizontes maduros do *Plasmodium vivax* são grandes e amebóides. A cromatina é reorganizada em duas ou mais massas; os pigmentos são também organizados em mais do que uma massa. O esquizonte maduro, sofre segmentação formando 12 a 24 merozoítos dispostos segundo uma roseta, em torno do pigmento. Cada merozoíto contém um ponto de cromatina e uma massa de citoplasma. Os G.V infectados são normalmente maiores do que os não infectados. Pouco

antes de decorridas 48 horas, os merozóitos libertam-se da célula hospedeira e ficam temporariamente livres no plasma, passando rapidamente a outros eritrócitos não infectados e iniciando assim um novo ciclo de multiplicação assexuada. A repetição deste ciclo conduz à parasitémia. É, contudo, frequente haver resposta por parte do hospedeiro à actividade do parasita fagocitando os merozóitos livres e, alguns dos eritrócitos parasitados, o que reduz, eventualmente, a destruição dos GV. Após diversos ciclos assexuados desaparece a parasitémia primária. Decorridas algumas semanas, nas infecções por estirpes tropicais, ou de alguns meses no caso das estirpes de zonas temperadas, desenvolve-se, de novo, a parasitémia, devida a nova descarga de merozóitos, libertados dos exo-eritrocíticos (Figura 7) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).

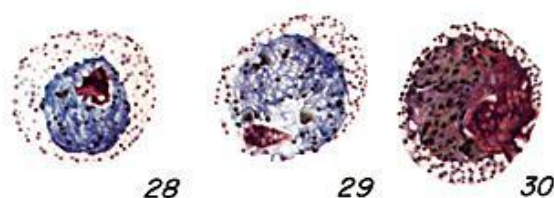


**Figura 7.** Esquizontes de *P. vivax* (Coatney et al., 1971).

Após vários ciclos de reprodução assexuada, aparecem nos GV, os gametócitos, sob a forma de parasitas arredondados. Enquanto crescem, os gametócitos mantêm o contorno arredondado e não revelam actividade amebóide. Quando completamente desenvolvidos, o microgametócitos são do tamanho do GV não infectados, apresentam um citoplasma difuso de cor azul pálido, rosa ou cinzento, e uma massa bastante dispersa de cromatina nuclear, localizada no interior de um vacúolo. O pigmento hematínico está



disseminado através do citoplasma. O macrogametócito maduro é arredondado, podendo ser oval e normalmente preenche a célula hospedeira. Possui um citoplasma mais denso de cor azul-escuro e contém no seu interior pigmentações finas de cor castanha. Apresenta um núcleo menor e uma pequena ou mesmo nenhuma zona hialina, circundante. O pigmento malárico dispõe-se em pequenos aglomerados ou numa espécie de rede, próximo do bordo do citoplasma. Os GV infectados são notoriamente maiores do que os não infectados. Estes gametócitos maduros constituem a fase de transmissão para o mosquito hospedeiro (Figura 8) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).



**Figura 8.** Gametócitos de *P. vivax* (Coatney et al., 1971).

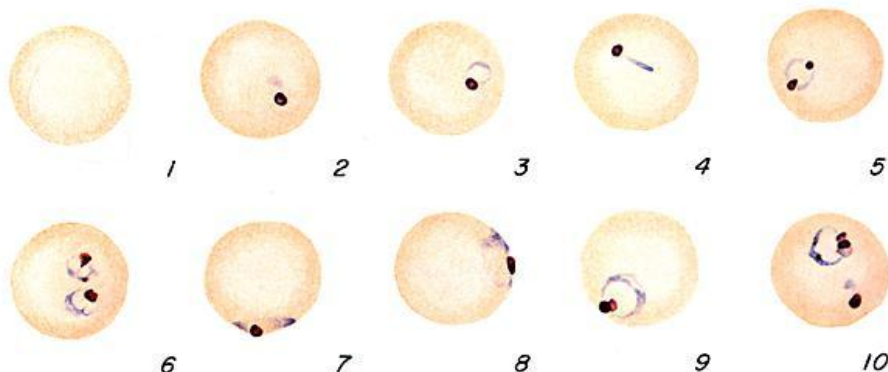
### ***1.5.2. Plasmodium falciparum***

O *P. falciparum* é o parasita que está essencialmente limitado às regiões tropicais e subtropicais (Faust, 1975). É o agente causal da febre terçã maligna, com acessos febris que se repetem clinicamente com intervalos de 48 horas (Theml, 2004). É a forma mais grave da malária e por vezes mortal.

No hospedeiro humano, as formas de *P. falciparum* são as seguintes: esporozóitos; trofozóitos e esquizontes pré-eritrocíticos; trofozóitos, esquizontes (raramente vistos) e gametócitos eritrocíticos (Faust, 1975). Os esporozóitos do *P. falciparum* são semelhantes aos dos *P. vivax*, embora sejam mais delgados e de extremidades mais afiladas. Medem cerca de 10 a 12 µm de comprimento. Cerca de 30 minutos após a inoculação os esporozóitos desaparecem do sangue circulante (Faust, 1975). O esporozóito é introduzido no homem pela picada da fêmea do mosquito infectado. Seguidamente o

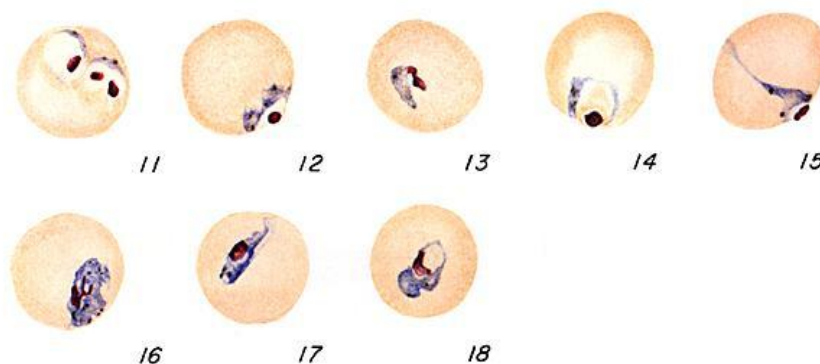
esporozóito desaparece do sangue circulante afectando a célula hepática onde se transforma em trofozóito e mais tarde em esquizonte. Alguns estudos revelam que em pacientes inoculados com esporozóitos, o trofozóito transforma-se ao fim do sexto dia num esquizonte de 60  $\mu\text{m}$  de diâmetro, contendo cerca de 40.000 merozóitos. O desenvolvimento pré-eritrocítico do *P. falciparum* é muito semelhante ao de *P. vivax*, apresentando no entanto, período mais curto para o crescimento do trofozóito e sua passagem a esquizontes maduros (Faust, 1975). Por rotura da célula hospedeira parasitada, os merozóitos livres atingem a corrente sanguínea e invadem os GV dando origem aos trofozóitos iniciando-se assim a infecção eritrocítica (Faust, 1975).

O trofozóito de *P. falciparum* aparece pela primeira vez no sangue periférico sete dias após a inoculação do esporozóito. O trofozóito jovem, apresenta-se como um anel oval ou circular de pequenas dimensões medindo  $1/5$  do diâmetro do eritrócito, com um corpúsculo nuclear nítido, a um dos lados, e uma fina camada de citoplasma em torno do vacúolo central (Coatney et al., 1971; Faust, 1975). Frequentemente, o parasita jovem aparece na periferia do eritrócito, imediatamente a seguir a membrana celular, produzindo, o corpúsculo nuclear, uma dilatação à superfície da célula. Pode-se observar frequentemente diversas fases da divisão nuclear binária, na forma de anel do trofozóito, seguida da divisão binária do citoplasma, levando à produção de dois parasitas em cada anel, podendo assim observar-se uma infecção dupla por trofozóitos jovens no GV. Os trofozóitos jovens podem apresentar diversas formas (Figura 9).



**Figura 9.** Trofozóitos jovens em forma de anel de *P. falciparum* (Coatney et al., 1971).

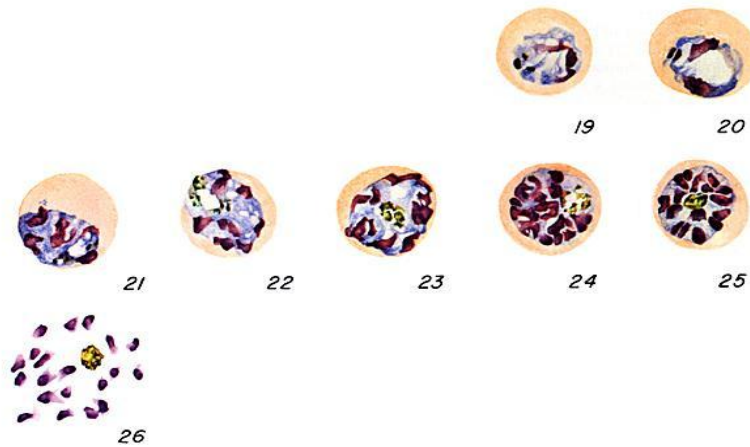
Os trofozóitos do *P. falciparum* tendem a permanecer em forma de anel, mas podem tornar-se mais espessos e compactos. A quantidade de pigmento e cromatina também podem aumentar. Granulações avermelhadas designadas de Maurer podem estar presentes. Formas compactas ou amebóides podem ser visualizadas em esfregaços quando há um atraso na análise do sangue (Coatney et al., 1971). Habitualmente os eritrócitos infectados apresentam múltiplos parasitas, o que origina uma parasitemia intensa (Figura 10).



**Figura 10.** Trofozóitos maduros de *P. falciparum* (Coatney et al., 1971).

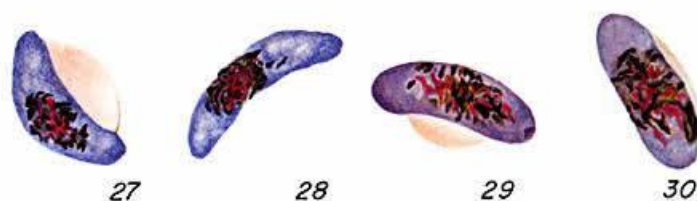
Os esquizontes raramente são observados no sangue periférico em infecções provocadas pelo *P. falciparum*, excepto em casos severos, diferindo neste aspecto, das outras espécies. Esta fase de esquizogonia desenvolve-se no sangue visceral. Os eritrócitos infectados, sofrem alterações de superfície e o esquizonte adere às paredes dos vasos sanguíneos mais profundos. A esquizogonia começa, geralmente, cerca de 24 horas após a infecção dos GV, e prossegue durante as 12 a 24 horas seguintes, com produção de 8 a 36 merozóitos, dispostos em roseta, em torno de uma massa central de pigmento hematínico. O esquizonte maduro normalmente preenche 2/3 do eritrócito infectado (Coatney et al., 1971; Faust, 1975). A libertação dos merozóitos por rotura do GV, a sua curta duração livre no plasma sanguíneo e a infecção de novos eritrócitos não infectados

são observados no sangue visceral. O ciclo eritrocítico assexuado completa-se, geralmente, em 36 a 48 horas (Figura 11) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).



**Figura 11.** Esquizontes de *P. falciparum* (Coatney et al., 1971).

Os gametócitos imaturos raramente são observados no sangue periférico. Estes são redondos ou ovais com membrana celular diferenciada. Apresentam forma de lua crescente e tendem a ocupar um dos lados do GV, consideravelmente aumentado. A membrana do GV transforma-se numa película fina que é observada com facilidade no lado côncavo do parasita. Quando completamente maduro, o gametócito pode libertar-se deste invólucro. Não é possível distinguir o “sexo” dos gametócitos imaturos do *P. falciparum*, mas quando amadurecidos, são perfeitamente diferenciados os gametócitos masculinos e femininos. O citoplasma dos macrogametócitos (fêmea) são normalmente azul-escuro, o citoplasma dos microgametócitos (macho) é normalmente rosa. A cromatina vermelha e a pigmentação grosseira é mais concentrada nos macrogametócitos do que nos microgametócitos (Figura 12) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).



**Figura 12.** Gametócitos de *P. falciparum* (Coatney et al., 1971): 27 e 28- macrogametócito (feminino); 29 e 30- microgametócito (masculino).

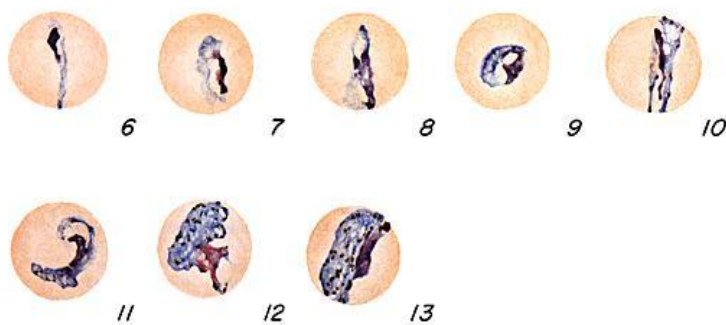
### 1.5.3. *Plasmodium malariae*

*P. malariae* é menos frequente que o *P. vivax* e *P. falciparum*. É o agente causal da febre quartã, que se caracteriza pela ocorrência de acessos febris a cada 72 horas (Theml, 2004). No hospedeiro humano, as formas de *P. malariae* são as seguintes: esporozóitos; trofozóitos e esquizontes pré-eritrocíticos; trofozóitos, esquizontes e gametócitos eritrocíticos (Faust, 1975). Os esporozóitos do *P. malariae* assemelham-se aos do *P. vivax* e *P. falciparum*, apresentando um aspecto mais grosseiro (Faust, 1975). O esporozóito é introduzido no homem pela picada do mosquito infectado, transformando-se mais tarde em trofozóito. O desenvolvimento dos trofozóitos e a sua transformação em esquizontes maduros nas células parenquimatosas do fígado ocorre em cerca de 13 dias, com uma produção aproximada de 2.000 merozóitos. Estes merozóitos atingem a corrente sanguínea e invadem os GV, onde iniciam a infecção eritrocítica (Faust, 1975). O desenvolvimento eritrocítico assexuado de *P. malariae* está sincronizado, com repetição do ciclo em cada 72 horas (Faust, 1975). O trofozóito jovem normalmente é pequeno, ovóide ou em forma de anel, com escassa actividade amebóide. Apresentam um ponto de cromatina, raramente dois, e o citoplasma tem tendência a ser mais espesso do que o do *P. falciparum* (Figura 13) (Coatney et al., 1971).



**Figura 13.** Trofozóitos jovens em forma de anel de *P. malariae* (Coatney et al., 1971).

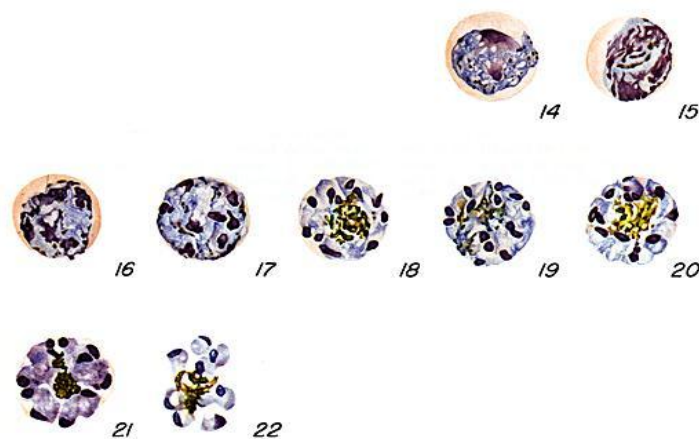
À medida que o trofozóito aumenta de volume, a sua forma passa, de oval e larga, a uma banda mais ou menos fina, que se estende ao longo de todo o diâmetro da célula hospedeira e apresenta, frequentemente, um vacúolo. O trofozóito maduro nunca preenche totalmente o eritrócito. O pigmento hematínico é escuro, em geral de aspecto grosseiro, e gradualmente acumula-se no centro do trofozóito (Faust, 1975). O eritrócito infectado apresenta um tamanho normal, e raramente apresenta mais de um parasita por célula o que leva a uma baixa parasitêmia (Figura 14) (Coatney et al., 1971).



**Figura 14.** Trofozóitos maduros de *P. malariae* (Coatney et al., 1971).

Os esquizontes do *P. malariae* formam entre 6-12 massas nucleares (merozóitos) normalmente organizados em roseta ou num aglomerado irregular. Em torno de cada um há um pequeno invólucro oval de citoplasma. Estes merozóitos dispõem-se em torno de uma massa de grânulos hematínicos. Os esquizontes maduros quase que preenchem um GV de tamanho normal. Ao dar-se a maturação, os merozóitos abandonam o GV

parasitado e, após um curto período de vida livre, no plasma sanguíneo, invadem novos GV ( Figura 15) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).



**Figura 15.** Esquizontes de *P. malariae* (Coatney et al., 1971).

Os gametócitos imaturos do *P. malariae* são compactos, não ocorrendo aumento do GV infectado. O citoplasma cora de azul e a cromatina entre rosa e vermelho. A pigmentação escura é abundante e dispersa por todo o citoplasma. O microgametócito maduro tem citoplasma mais denso, grânulos de cromatina frequentemente mais concentrados e grosseiros e um núcleo menor (Figura 16) (Coatney et al., 1971; Faust, 1975).



**Figura 16.** Gametócitos de *P. malariae* (Coatney et al., 1971).

#### **1.5.4. *Plasmodium ovale***

*P. ovale* é o agente causal da malária terçã, que se caracteriza pela ocorrência de acessos febris a cada 48 horas (Theml, 2004) . Provoca uma distorção em muitos GV parasitados, os quais tomam um aspecto dilatado e irregularmente oval. Todas as formas de *P. vivax* que se desenvolvem nos focos exo-eritrocíticos e nos GV são igualmente observadas em *P. ovale*, sendo a diferenciação entre ambos difíceis no exame microscópico (Faust, 1975). A infecção por *P. ovale* apresenta incidência baixa, entre as populações das regiões endémicas. É mais comum na África Ocidental, onde se verifica maior percentagem de indivíduos de grupo sanguíneo Duffy negativo, pois tais indivíduos são refractários à infecção por *P. vivax* mas não por *P. ovale*.

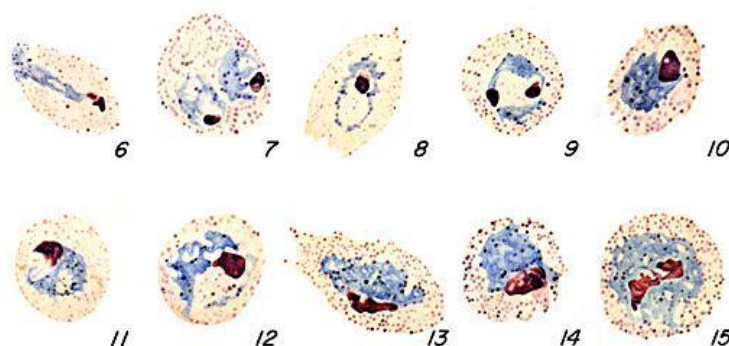
No hospedeiro humano, as formas de *P. ovale* são as seguintes: esporozóitos; trofozóitos e esquizontes pré-eritrocíticos; trofozóitos, esquizontes e gametócitos eritrocíticos. Os esporozóitos são ligeiramente mais dilatados do que o habitual, são alongados e arredondados numa das extremidades, medindo cerca de 11 a 12 µm de comprimento (Faust, 1975). O esporozóito é introduzido no homem pela picada do mosquito infectado. Seguidamente, o esporozóito afecta uma célula hepática, onde se transforma em trofozóito e mais tarde em esquizonte que liberta merozóitos, que atingem a corrente sanguínea e invadem os GV (Faust, 1975). O ciclo eritrocítico processa-se em 48 horas. A porção não parasitada do eritrócito infectado apresenta grânulos de Schüffner mais nítidos do que no caso de infecção por *P. vivax* (Faust, 1975). Depois de infectar o eritrócito, o merozóito transforma-se num trofozóito jovem que apresenta forma de anel, com uma massa nuclear condensada, apresentando um ponto de cromatina ou podendo, raramente, conter também um ponto duplo de cromatina. O citoplasma é mais compacto do que o de *P. vivax* e cora, usualmente, de azul mais escuro. O vacúolo por vezes é menos visível e não se observam movimentos amebóides. Ocasionalmente, desenvolvem-se dois *Plasmodium* no interior do mesmo eritrócito, dificultando a diferenciação do *P. falciparum* (Figura 17) (Faust, 1975).





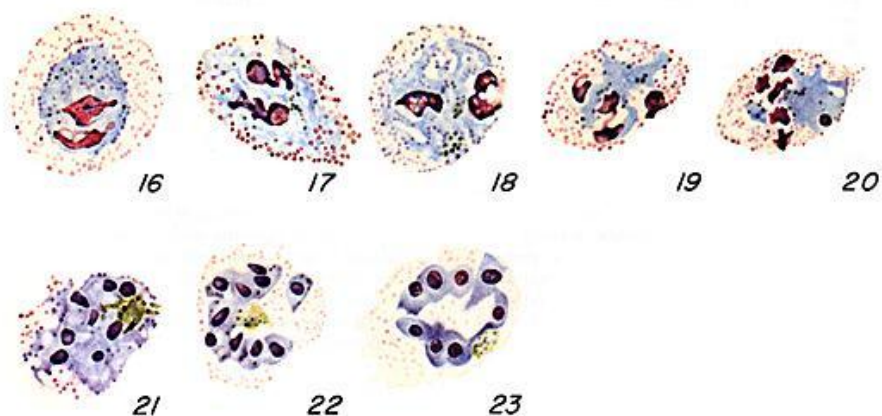
**Figura 17.** Trofozóitos jovens em forma de anel de *P. ovale* (Coatney et al., 1971) .

O trofozóito é frequentemente arredondado, por vezes oval ou alongado, mas não se apresenta em forma de banda típica. O GV parasitado toma um aspecto oval, se o esfregaço for muito fino e seco rapidamente, caso contrário, o GV parasitado tem a forma particularmente normal e, quanto ao tamanho, é normalmente semelhante ao do GV não parasitado (Figura 18) (Faust, 1975).



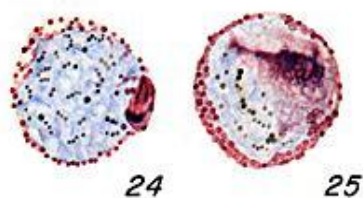
**Figura 18.** Trofozóitos maduros de *P. ovale* (Coatney et al., 1971) .

Os esquizontes do *P. ovale* são arredondados ou ovais e enchem quase completamente os GV infectados. O núcleo divide-se até à produção de um número relativamente pequeno de massas cromatínicas (6 a 12, habitualmente 8), como em *P. malariae*. Os grânulos de hematina concentram-se numa única massa central, em torno da qual se dispõem os merozóitos de modo irregular. Apresenta pigmentos mais claros e menos grosseiros, semelhantes ao *P. vivax* (Figura 19) (Faust, 1975).



**Figura 19.** Esquizontes de *P. ovale* (Coatney et al., 1971).

Nos GV, os gametócitos do *P. ovale* são muito semelhantes aos de *P. vivax* e *P. malariae*, são arredondados, compactos e comportam-se de forma semelhante em relação aos corantes. O macrogametócito maduro preenche o GV hospedeiro, o microgametócito é menor (Figura 20).



**Figura 20.** Gametócitos de *P. ovale* (Coatney et al., 1971) .

A tabela seguinte (Tabela 1) descreve sumariamente as características diferenciais dos parasitas da malária em esfregaços sanguíneos:

**Tabela 1.** Diferenciação morfológica das espécies de parasitas da malária (Lewis, 2001).

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>
<b>Hemácias (infectadas)</b>	Tamanho normal, Grânulos de Maurer	Aumentado, Grânulos de Schuffner	Normal	Aumentado, oval, Grânulos de Schuffner
<b>Trofozoítos jovens (forma em anel)</b>	Frequentemente 2 ou mais, manchas de cromatina pequenas	Grandes, espessos, em geral únicos (ocasionalmente 2) na célula, grânulo cromatínico grande	Anéis muito pequenos e compactos	Anéis compactos e grossos
<b>Trofozoítos maduros</b>	Compactos, vacuolizados, às vezes 2 grânulos de cromatina	Amebóides, vacúolo central, citoplasma azul-claro	Uma banda cruzando a célula, citoplasma azul-escuro	Menores que no <i>P. vivax</i> , amebóides
<b>Esquizontes</b>	18-24 merozoítos, enchendo 2/3 da célula	12-24 merozoítos, irregularmente dispostos	6-12 merozoítos, formando roseta ao redor da massa de pigmento	8-12 merozoítos, enchendo ¾ da célula
<b>Gametócitos</b>	Em forma de crescente, cromatina difusa, núcleo único	Esféricos, compactos, quase enche a célula, núcleo único	Redondos, enche ½ a 2/3 da célula, similar ao do <i>P. vivax</i> , mas menores, sem grânulos de Schuffner	Oval, enche ¾ da célula, similar, porém menor do que os de <i>P. vivax</i>

## 1.6. Patogenia e Quadro Clínico

A malária é uma doença sistémica que provoca alterações a nível de vários órgãos, variando, porém, desde casos benignos e crónicos até formas agudas e/ou fatais. A malária complicada pode levar a mortalidade quando não tratada. A malária “benigna” pode resultar em debilitação crónica, mas raramente provoca a morte (Rosas, 2003).

A malária inicialmente caracteriza-se por sintomas inespecíficos. Estes sintomas podem surgir nos primeiros seis dias ou várias semanas após o indivíduo ter sido

infectado, consoante a espécie. Os primeiros sintomas são semelhantes aos da gripe. A febre é o sintoma mais frequente com subida rápida da temperatura, esta subida coincide com a ruptura das hemácias, atinge os 39-41°C, seguida de descida lenta, em 4 a 8 horas, é acompanhada habitualmente de cefaleias, mal-estar geral, sudação profusa, prostração e mialgias, podendo igualmente surgir sintomas gastrointestinais e icterícia (Rosas, 2003). A malária grave (*P. falciparum*), resulta do facto dos eritrócitos parasitados aderirem entre si e posteriormente se alojarem nos capilares dos órgãos vitais, provocando o bloqueio destes. Esta pode incluir malária cerebral, anemia grave (destruição dos GV), hipoglicémia, síndrome de dificuldade respiratória aguda, insuficiência renal e infecções secundárias (Rosas, 2003).

### **1.7. Medidas Preventivas**

A profilaxia da malária tem, como principal objectivo, reduzir o número de *Anopheles*. e ainda, evitar a transmissão de *Plasmodium*, do homem ao mosquito, por tratamento das populações infectadas, usando quimioterapia profiláctica e protecção das populações contra a picada dos vectores anofelinos.

Nas regiões temperadas, estas medidas têm tido um êxito notável, tendo sido possível erradicar a malária. Nos países tropicais, a situação é completamente diferente, uma vez que na maioria das situações o vector e os indivíduos vivem fora das habitações durante todo o ano não permitindo que o ataque directo ao mosquito seja eficaz, ocorrendo assim a transmissão durante a noite ao ar livre praticamente sem controlo (Ferreira, 1982; Rosas, 2003) .

#### **1.7.1. Medicação Profiláctica: Anti-Maláricos**

Numerosos viajantes contraem paludismo quando viajam para países onde a doença é endémica. Através de uma consulta médica, deve-se verificar se o viajante terá

necessidade de fazer quimioprofilaxia para a malária, caso indicada deverá ser prescrita pelo médico. A quimioprofilaxia da malária deverá ser recomendada caso a caso, tendo em conta o local da viagem (Rosas, 2003). Em Portugal os fármacos mais utilizados para a quimioprofilaxia anti-malária são: a cloroquina, a mefloquina, as associações atovaquona/proguanil e cloroquina/proguanil (Germano, 2005). A utilização de cloroquina está actualmente a ser limitada pela existência de estirpes resistentes de *P. falciparum*, sendo nestes casos utilizada a mefloquina ou doxiciclina (Germano, 2005). Esta medicação poderá ser bastante eficaz se for tomada correctamente e, poderá evitar que o viajante venha a desenvolver a forma grave da doença. Terá de se ter sempre em consideração eventual medicação anterior e, de modo geral, a quimioprofilaxia não deve exceder um período de três meses, sendo administrada, antes, durante e após a estadia na região de risco de contrair a doença (Rosas, 2003) .

### **1.7.2.Medidas de Protecção Individual**

As pessoas que viajam para regiões onde a doença é endémica, antes de viajar, devem procurar informar-se sobre as medidas preventivas individuais. Entre estas medidas pode referir-se: evitar aproximação a áreas de risco após o entardecer, ao ar livre usar repelentes de mosquitos à base de dietiltoluamida (DEET) nas áreas do corpo expostas, usar calças e camisas de manga comprida sempre que possível, para reduzir a área corporal exposta às picadas de insectos (Rosas, 2003) .

### **1.7.3.Medidas de Protecção Ambiental**

O uso de telas nas janelas e mosquiteiros nos quartos de dormir impede a entrada dos vectores nas habitações. O uso de insecticidas, como o DDT, também é usado como método profiláctico como forma de protecção contra insectos que transmitem a doença. (Ferreira, 1982; Rosas, 2003).

## 1.8. Tratamento

### 1.8.1. Medicamentos Anti-Maláricos

O retardamento no diagnóstico, atraso do tratamento ou terapia direccionada para a espécie de *Plasmodium* incorrecta pode ter consequências graves. Quando a malária é detectada precocemente o tratamento é simples. A escolha do fármaco anti-malárico no tratamento da malária deve ser adequado à espécie do parasita, à resistência aos fármacos por parte do parasita, à gravidade do quadro clínico e às características imunológicas do doente (Germano, 2005). A terapia da malária passa pela utilização de fármacos anti-maláricos, que são geralmente classificados em termos da sua acção contra as diferentes fases do ciclo evolutivo do parasita. Os agentes anti-maláricos mais amplamente utilizados são cloroquina, a mefloquina, a quinina, quinidina, primaquina e doxiciclina (Vale, 2003; Vale, 2005). Os anti-maláricos designados de esquizonticidas sanguíneos ou agentes supressores actuam sobre as formas assexuadas dos parasitas na corrente sanguínea (exemplos: cloroquina e quinina), os fármacos designados de agentes esquizonticidas teciduais ou agente profilático causal agem sobre as formas assexuadas dos parasitas nos tecidos (previnem a reincidência). Pode ser: 1) esquizonticida tecidual primário – este fármaco age sobre as formas pré-eritrocíticas, bloqueando a passagem do estágio exo-eritrocitário ao eritrocitário impedindo assim o desenvolvimento dos ataques agudos de malária (Vale, 2003; Vale, 2005); 2) esquizonticida tecidual secundário – este fármaco age sobre as formas exo-eritrocíticas secundárias do parasita (exemplo: primaquina) (Vale, 2003; Vale, 2005). Os agentes gametocidas agem sobre as formas sexuadas (gametócitos) dos parasitas no sangue, impedindo assim a transmissão da doença do homem ao mosquito vector, evitando-se a propagação da infecção. Os agentes anti-maláricos, na sua maioria apresentam esta actividade. A cloroquina e a quinina possuem actividade gametocida contra *P. vivax* e *P. malariae*, mas não contra o *P. falciparum*. A primaquina é um gametocida eficaz contra todas as estirpes do parasita,

incluído o *P. falciparum* (Vale, 2003; Vale, 2005) Um tratamento efectivo da malária deverá, pois, incluir simultaneamente agentes esquizotomicidas teciduais, sanguíneos e gametocidas (Vale, 2003; Vale, 2005).

### **1.8.2. Resistências aos Medicamentos Anti-Maláricos**

A erradicação da malária é a meta de um caminho já secular e pleno de obstáculos, essencialmente devidos à grande complexidade do ciclo de vida do parasita e à sua versatilidade biológica, que lhe permite adquirir resistências às inúmeras estratégias quimioterapêuticas que têm vindo a ser aplicadas (Vale, 2005).

Apesar da variedade de agentes anti-maláricos os parasitas, principalmente o *P. falciparum* (estirpe mais mortal), tem desenvolvido mecanismos de defesa contra os fármacos, nomeadamente, contra a cloroquina, sendo no entanto, este anti-malárico o mais eficaz e acessível em todo mundo. A rápida propagação da resistência a este medicamento originou uma catástrofe na saúde pública em países da ASS em 1998 (Vale, 2005). Na malária severa, pela gravidade clínica do doente, devem ser utilizados fármacos anti-maláricos eficazes contra as espécies multirresistentes de *P. falciparum* (Germano, 2005). Em Portugal, nestes casos, o tratamento baseia-se na associação do quinino com a doxiciclina sendo este o esquema preferencial pela elevada eficácia e ausência de resistências (Germano, 2005). A doxiciclina é um derivado sintético da tetraciclina, o seu mecanismo de acção baseia-se na inibição da síntese proteica é utilizada em algumas áreas para o tratamento da malária por *P. falciparum* resistente a cloroquina. O custo elevado da doxiciclina em relação às demais tetraciclinas torna-se um obstáculo para o seu uso.

Tendo em conta a rápida propagação da resistência à cloroquina, um grupo de cientistas investigaram uma nova terapia com base na combinação de artemisinina para evitar a continuação da disseminação da resistência aos medicamentos e, assim, evitar-se uma catástrofe a nível mundial. Perante isto, muitos países da ASS mudaram a sua política de tratamento da malária para artemisinina, adoptando esta nova terapêutica. No

entanto, vários obstáculos surgem perante esta nova terapia, tais como o elevado custo e escassez, o que leva a que esta terapia seja pouco utilizada pela população de ASS. Burkina Faso é um dos países mais pobres do mundo, que se situa na zona ocidental da África e é uma zona altamente endémica de malária, sendo dominante a espécie de *P. falciparum*. Estudos efectuados nos centros de investigação do país, revelaram resistência à cloroquina, tendo-se verificado um aumento rápido de número de casos de resistência a este medicamento ao longo dos últimos anos. Pelo contrário, verificou-se que o uso da terapia à base de pirimetamina-sulfadoxina não proporciona o aparecimento de resistências. Consequentemente, a OMS recomendou a mudança da política de tratamento da malária para estes países, o que não se verificou, por falta de fundos (Kouyate et al., 2007) . Tem sido uma tarefa de grande prioridade, a pesquisa de novas terapias anti-maláricas, a um custo acessível, para a erradicação da doença.

### **1.8.3.Perspectivas Futuras**

Actualmente, com o aumento da resistência a medicamentos anti-maláricos, o desenvolvimento de uma vacina contra a malária constitui uma enorme expectativa. Apesar de vários estudos que vêm sendo feitos há muitos anos, não existe ainda uma vacina que confira protecção satisfatória contra a malária. São várias as iniciativas existentes cujo objectivo principal é travar o crescimento da malária. A *Malaria Vaccine Initiative* (MVI) tem realizado vários testes da vacina em humanos utilizando fundos da *Bill and Melinda Gates Foundation*, mas a campanha *Roll Back Malaria*, da OMS e a *Harvard Malaria Initiative* desenvolvido na Escola de Saúde Pública de Harvard, reconhecem a importância de continuar a investigação para uma vacina eficaz (Wilson, 2009). A vacina da *GlaxoSmithKline* (GSK), conhecida como RTS,S, tem estado em desenvolvimento desde 1988 e foi testada em 1998 na Zâmbia, revelando resultados positivos em cerca de 35% das pessoas. No entanto a protecção durava apenas cerca de 2 meses, sendo as crianças as que beneficiavam mais dos efeitos. Mais recentemente, em 2004 a vacina foi testada em milhares de crianças de Moçambique, revelando uma



protecção de apenas 30% e prevenção de se tornar incurável de apenas 58% dos casos. Mesmo resultando apenas parcialmente, foi considerada como uma vitória a nível de saúde pública. A 26 de Maio de 2009 tiveram início os testes finais da vacina RTS,S conhecidos como de fase III, na Tanzânia. Os centros de investigação distribuídos por toda a África irão trabalhar com a GSK e a MVI de forma a avaliar a eficácia e segurança da vacina RTS,S (Wilson, 2009).

## **1.9. Técnicas de Diagnóstico Laboratorial**

O diagnóstico laboratorial de infecção por malária é possível pela observação do parasita no esfregaço sanguíneo, ou através da detecção de antígenos no sangue do paciente. Mesmo após o desenvolvimento de inúmeros testes imunológicos para a detecção de antígenos da malária, o método essencial para o diagnóstico definitivo persiste na pesquisa de parasitas no sangue periférico e identificação da espécie pela morfologia (Lewis, 2001). A pesquisa de *Plasmodium* por microscopia pode ser feita por dois métodos, pela técnica de gota espessa e pelo esfregaço sanguíneo. Dependendo do objectivo do trabalho, cada um destes exames oferece vantagens e desvantagens.

### **1.9.1. Gota Espessa**

As preparações de gota espessa são extremamente úteis quando os parasitas são escassos. Embora a identificação das espécies seja mais fácil em esfregaços finos, infecções mistas podem não ser observadas. A gota espessa é uma técnica que se baseia na visualização de hemoparasitas através de microscopia óptica, após coloração com corante vital (Giemsa é a coloração mais usual). Após observação da presença de parasitas, deve-se efectuar e observar um esfregaço fino para determinar a espécie de *Plasmodium*. No caso de infecção por *P. falciparum*, para avaliar a gravidade da infecção, conta-se as células infectadas no esfregaço sanguíneo uma vez que a técnica referida

anteriormente não é usada para a contagem de parasitémia (Lewis, 2001; Caquet, 2004). Esta técnica permite observar bem os parasitas, mesmo quando presentes em números baixos. Por outro lado, é uma técnica simples, eficaz, de baixo custo e fácil de realizar. No entanto, a gota espessa é um método mais demorado que o método do esfregaço normal e, dificilmente, permite a identificação do parasita em causa (Caquet, 2004).

Nesta técnica aconselha-se amostra de sangue colhida directamente por punção capilar ou venosa sem anticoagulante. O sangue colhido com anticoagulante não é indicado para a preparação da gota espessa, por não apresentar boa fixação na lâmina, podendo desprender-se no acto da coloração ou durante a lavagem (Lewis, 2001; Caquet, 2004).

### **1.9.2.Esfregaço de Sangue Periférico**

Um esfregaço de sangue periférico (ESP) propriamente preparado permite visualizar os componentes celulares do sangue num estudo tão natural quanto possível. Esta técnica permite obter um resultado rápido, a confirmação da presença do *Plasmodium* e identificar a espécie em causa. Por ser fixado o espécime e não submetido à desmoglobinização, a perda de parasitas é bem menor do que na gota espessa. Na detecção de *P. falciparum*, esta técnica possibilita o cálculo da parasitémia (%) mediante a contagem de hemácias parasitadas em 100 hemácias, que quando apresenta valores superiores a 3% deve ser considerada perigosa (Caquet, 2004) . No entanto, o E.S.P por ter menos quantidade de sangue, espalhado numa única camada (ocupa maior área da lâmina), dificulta a observação das hemácias parasitadas. Assim, não é indicado para diagnóstico inicial, especialmente em pacientes com parasitémias baixas.

Os esfregaços podem ser feitos manualmente (procedimento descrito posteriormente) ou automaticamente. Para a execução do esfregaço pelo método automatizado devem ser seguidas as instruções do fabricante (Lewis, 2001) . Quando a preparação é manual, os esfregaços podem ser feitos com sangue fresco sem anticoagulante obtido da veia (punção venosa) ou do capilar (punção capilar), ou usando sangue anticoagulado com

ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Não são usados outros anticoagulantes para evitar a alteração morfológica (Lewis, 2001). Num bom esfregaço a cabeça, corpo e a cauda tem que ser bem visível. Com uma gota de tamanho normal, o esfregaço terá um comprimento de aproximadamente 3 cm (ocupa 2/3 da lâmina) e terminará de forma arredondada a menos de 1 cm antes da extremidade da lâmina. A espessura do esfregaço de sangue pode ser regulada por variação da pressão, da velocidade e do ângulo entre a lâmina e o espalhador durante a preparação. Para sangue anémico, deve-se executar o esfregaço com um ângulo mais aberto e para sangue policitémico, o ângulo deve ser mais fechado. Um esfregaço irregular e com interrupções pode ocorrer quando a lâmina contém gordura, e se tiver pó, causará pequenas falhas na distensão (Lewis, 2001) .

O esfregaço sanguíneo para a pesquisa de *Plasmodium* pode ser corado por Giemsa. Os corantes para os E.S.P, são uma mistura de corantes de características neutras, dependentes do pH da solução corante, que em condições apropriadas coram os componentes nucleares e citoplasmáticos dos leucócitos, com predominância de tons vermelhos (quando ácidos) e azulados (quando básicos) (Lewis, 2001).

### **1.9.3. Microscopia de Fluorescência**

Os eritrócitos infectados com malária, após coloração com laranja-acridina fluorescem quando examinados ao microscópico de fluorescência.

Este método tem uma sensibilidade de cerca de 90% nas infecções agudas, mas só de 50% em estados de baixa parasitemia. Resultados falsos positivos podem ocorrer na presença de reticulócitos. Quando este teste é positivo, deve ser observado o esfregaço sanguíneo para confirmação e identificação da espécie de *Plasmodium* (Lewis, 2001; Caquet, 2004) .

#### 1.9.4.Método Quantitativo do Buffy Coat

O buffy coat quantitativo (pequena camada de leucócitos e plaquetas situada na interface entre os eritrócitos e o plasma no sangue centrifugado) é usado para detecção de parasitas de malária por microscopia de fluorescência. O sangue é centrifugado em tubos capilares recobertos de laranja-acidrina. É um método sensível, mas tem a mesma desvantagem da positividade falsa na presença de reticulócitos. Quando positivo, deve-se proceder a observação do esfregaço sanguíneo. Este teste é útil para triagem (Lewis, 2001) .

#### 1.9.5.Testes Imunológicos

Os testes imunocromatográficos são métodos de triagem usados para diagnosticar rapidamente o *P. falciparum*. Baseiam-se na ligação de anticorpos monoclonais à proteína 2-rica em histidina (HRP-2), que está presente em eritrócitos parasitados por *P. falciparum*. Estes testes podem ser realizados em fitas de nitrocelulose contendo anticorpo monoclonal contra antígenos específicos do parasita. O ParaSight F (Becton Dickinson) é um método com um poço de imersão baseado no imunoensaio enzimático ELISA (do inglês: *enzyme-linked immunosorbent assay*) com sensibilidade de 95%. É negativo quando estão presentes apenas gametócitos. É inútil no acompanhamento imediato após o tratamento, porque se mantém positivo por 1 a 2 semanas após a cura clínica e o desaparecimento dos parasitas no sangue (Forbes et al., 1998; Lewis, 2001) . O ICT Malária Pf é um teste em cartão baseado em cromatografia de HRP-2, com sensibilidade de 100% e especificidade de 96,2%. O *Falciparum* Malária IC Strip também se baseia no método imunocromatográfico, mas é mais barato (Lewis, 2001).

Também há kits (ICT-PfPv® e OptiMal®) para a detecção de outras espécies de *Plasmodium*. pela combinação do anticorpo HRP-2, específico do *P. falciparum*, com um anticorpo contra a desidrogenase láctica (pDHL) específica do género *Plasmodium* . Estes

testes possibilitam diferenciar uma infecção causada pelo *P. falciparum* de outra causada por outra espécie, no entanto, não possibilitam identificar as espécies causadoras de malária mista (Ministério Saúde, 2005). O resultado de qualquer teste de triagem, deve ser confirmado sempre por microscopia (Lewis, 2001).

### **1.9.6. Reacção da Polimerase em Cadeia**

Com o desenvolvimento da tecnologia de amplificação do ácido desoxirribonucleico (ADN) do *Plasmodium*, usando a Reacção da Polimerase em Cadeia ou PCR (do inglês: *Polimerase Chain Reaction*), o diagnóstico da malária baseado na detecção de ácido nucléico mostrou grande progresso em termos de eficácia. O diagnóstico de malária através da PCR ainda é restrito em alguns laboratórios, em virtude do custo elevado de reagentes necessários e complexidade da técnica. Esta técnica fornece resultados altamente sensíveis e específicos, não é muito usada no diagnóstico de rotina, nomeadamente quando há necessidade de obter um resultado rápido. (Forbes et al., 1998; Lewis, 2001)

### **1.10. Objectivos do Trabalho**

Na década de 50 a região de Aveiro (bacia do Vouga) foi descrita como uma das zonas com maior incidência de malária (d'Eça, 1903). Tendo em conta as alterações climáticas (aquecimento global) observadas nos últimos anos e as alterações do meio ambiente (construção de barragens, águas represadas), a região de Aveiro poderá a curto prazo reunir as condições propícias ao reaparecimento de novos mosquitos *Anopheles anopheles*. Actualmente existe em Portugal Continental espécies de *Anopheles* com importância na incidência da malária (Capinha et al., 2009), mas não transmitem ainda a doença uma vez que as condições climáticas não são as mais adequadas para ocorrer um aumento da multiplicação dos mosquitos vectores e que estes consigam completar o

ciclo de vida do parasita (Capinha et al., 2009). Por outro lado, o aumento do número de viajantes que se deslocam a zonas endémicas de malária contribui também para a disseminação progressiva da doença.

Os objectivos deste estudo foram:

1. Avaliar a incidência da malária no distrito de Aveiro, analisando a sua evolução ao longo dos últimos anos.
2. Caracterizar a população afectada e detectar que parâmetros bioquímicos e hematológicos estão alterados nesta população.

## **Capitulo 2**

### **METODOLOGIA**

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. *População em Estudo***

O estudo foi feito com pacientes do Hospital Infante D. Pedro de Aveiro (HIDP), durante o período de quatro anos (Janeiro de 2005 a Janeiro de 2009). Os pacientes estudados eram todos da Região de Aveiro e tinham regressado recentemente de países onde a malária é endémica. O diagnóstico foi feito atendendo à sintomatologia e história clínica do paciente. Posteriormente, o diagnóstico foi confirmado com exames laboratoriais. A informação relativa às amostras estudadas (idade, sexo, diagnóstico, informação adicional e tratamento), foi recolhida das bases de dados Apollo e Sistema de Apoio ao Médico (SAM).

Neste período foram realizados 248033 hemogramas dos quais 187 foram analisados com pesquisa de *Plasmodium*.

### **2.2. *Colheita de Sangue***

A cada paciente foi colhido sangue periférico por punção venosa: 2.7 ml de sangue venoso para um tubo de colheita (Sarstedt) contendo anticoagulante EDTA e aproximadamente 4.9 ml de sangue venoso para um outro tubo sem anticoagulante (Sarstedt).

### **2.3. *Exames Laboratoriais***

As análises clínicas foram feitas na Secção de Hematologia e Bioquímica do Serviço de Patologia Clínica do HIDP. As amostras foram colhidas no Serviço de Urgência (SU) e Internamento. As análises clínicas incluíram determinações hematológicas, como o



hemograma [hemoglobina (Hb), glóbulos vermelhos (GV) e plaquetas (PLT)] com execução e observação do ESP e determinações bioquímicas como a bilirrubina total (BILT), desidrogenase láctica (LDH), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia (UR) e creatinina (CR). O hemograma foi realizado no equipamento Pentra 120 (ABX) e os parâmetros bioquímicos foram determinados no equipamento Dimension Rxl (Siemens), os métodos usados pelos aparelhos para determinar os parâmetros bioquímicos e hematológicos estão descritos na seguinte tabela (Tabela 2). A pesquisa de parasitas, foi feita em ESP corados pela técnica de Giemsa e observados ao microscópio óptico com objectiva de imersão. As hemácias parasitadas, foram contadas e determinou-se a parasitémia.

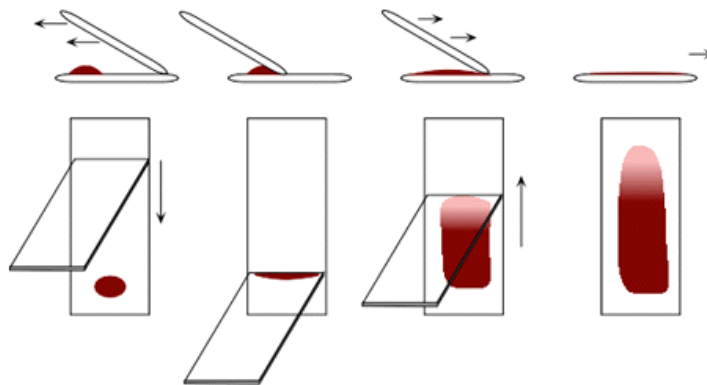
**Tabela 2.** Métodos dos equipamentos: Pentra 120 e Dimension Rxl

Parâmetros	Métodos
Hb	Cianometahemoglobina
GV	Impedância
PLT	Impedância
AST	Cinético: U.V com fosfato de piridoxal
ALT	Cinético: U.V com fosfato de piridoxal
LDH	Cinético: Substrato lactato
BILT	Ácido sulfanílico diazotado Acelerante caféina/ benzoato (Jendrassik-Grof)
UR	Enzimático: Urease/glutamato desidrogenase
CR	Colorimétrico: Picrato alcalino (reacção a ponto final directa)

### 2.3.1.Procedimento da execução do E.S.P. e da coloração de Giemsa

Execução do E.S.P (Lewis, 2001):

1. Escolher uma lâmina de vidro limpa;
2. Colocar uma pequena gota de sangue na linha central da lâmina, a cerca de 1cm de uma das extremidades (a gota de sangue não deve ser nem muito grande nem muito pequena para que o esfregaço não fique nem muito espesso nem muito fino);
3. Colocar a extremidade cortada e polida do espalhador à frente da gota, num ângulo de cerca de 30º entre o espalhador e a lâmina;
4. Puxar o espalhador para trás até contactar com a gota de sangue, que é espalhada na linha de contacto do espalhador;
5. Com um movimento rápido da mão, fazer o esfregaço de uma só vez, de forma firme, sem interrupções, de modo que a gota de sangue fique bem espalhada pela lâmina, obtendo-se um esfregaço fino e homogéneo;
6. Deixar secar à temperatura ambiente e corar pela técnica de Giemsa (Lewis, 2001).



**Figura 21.** Procedimento esquematizado da execução do E.S.P.

7. Preparar a solução corante de Giemsa:
  - a. Pesar 1g do corante em pó e transferir para um balão de Erlenmeyer;
  - b. Adicionar 100 ml de metanol;
  - c. Aquecer a 50 °C e manter nesta temperatura durante 15 minutos;
  - d. Deixar arrefecer e homogeneizar várias vezes durante o dia para haver dissolução;
  - e. Repousar durante 24 horas e filtrar a solução.
8. Coloração pela técnica de Giemsa:
  - a. Mergulhar a lâmina por 20 a 30 minutos numa tina com corante de Giemsa diluído (1 de corante para 20 de água tamponada);
  - b. Lavar a lâmina em água tamponada e deixá-la secar em posição vertical;
9. Observar o ESP ao microscópico óptico com objectiva de imersão.



## **Capitulo 3**

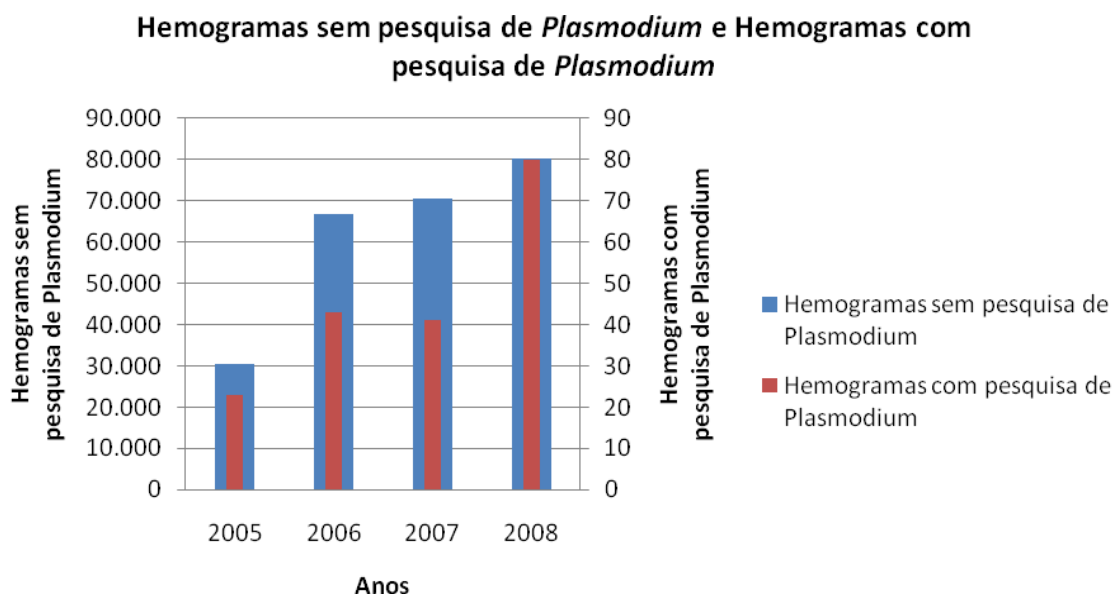
### **RESULTADOS**

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. *Dados epidemiológicos*

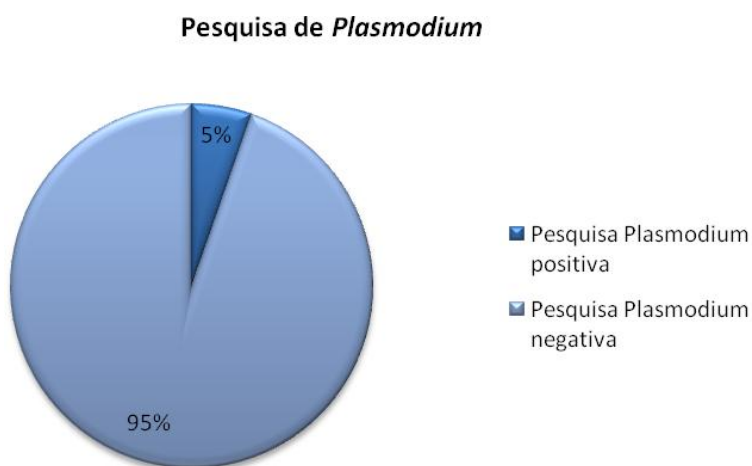
Os dados apresentados referem-se a um estudo efectuado entre Janeiro de 2005 a Janeiro de 2009 no Serviço de Patologia Clínica do HIDP. O produto biológico analisado foi sangue total e soro com suspeita de malária.

Durante os quatro anos de estudo realizaram-se 248033 hemogramas dos quais 187 pediam pesquisa de *Plasmodium* sendo estes analisados pormenorizadamente. Ao longo dos quatro anos de estudo houve um aumento de pedidos de hemogramas assim como do pedido de pesquisa de *Plasmodium* (Gráfico 1).



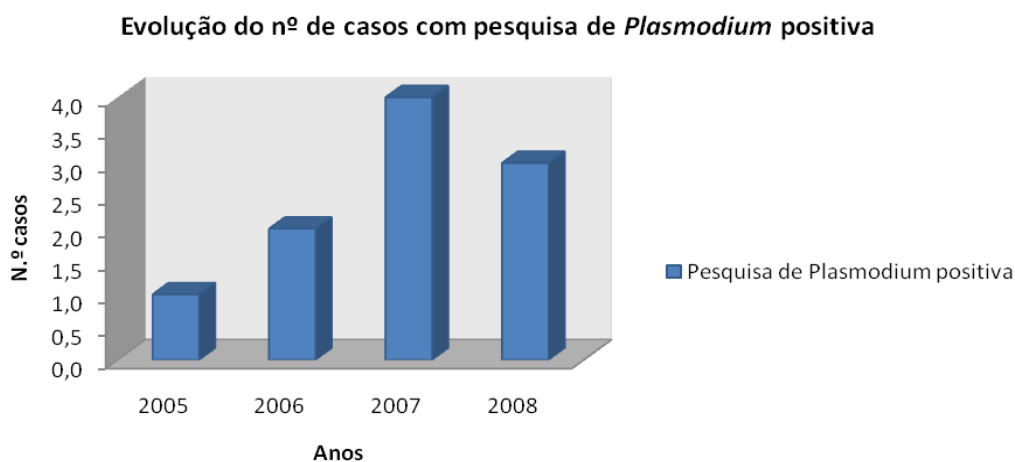
**Gráfico 1:** Evolução dos pedidos de hemogramas sem pesquisa de *Plasmodium* em relação ao pedido de hemogramas com pesquisa de *Plasmodium* nos quatro anos do estudo.

Este estudo incidiu em 187 casos clínicos (hemogramas com pesquisa de *Plasmodium*) dos quais 10 (5%) foram positivos para *Plasmodium* (Gráfico 2).



**Gráfico 2:** Percentagem dos hemogramas com pesquisa de *Plasmodium* positiva.

Embora o número de casos positivos de malária não sejam significativos, é de referir que ao longo dos quatro anos notou-se um ligeiro aumento (Gráfico 3).

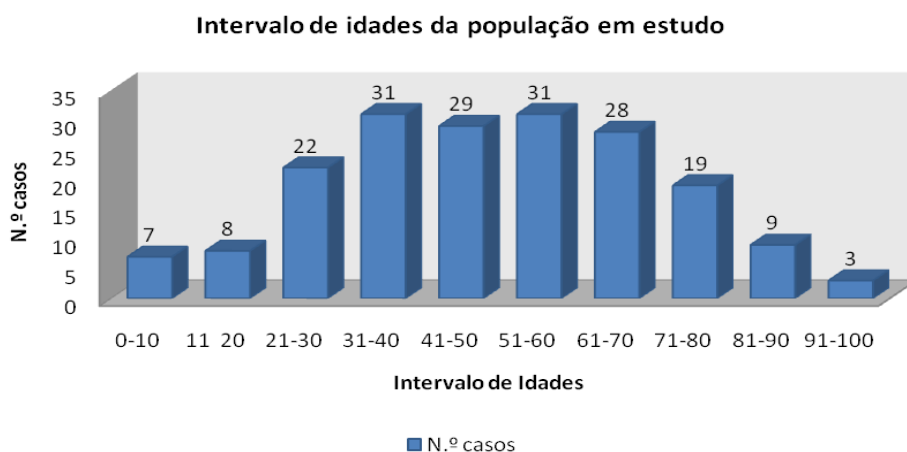


**Gráfico 3:** Evolução do número de casos positivos de malária durante os quatro anos do estudo.

### 3.2. Caracterização da população com sintomas de malária

Dos 187 casos clínicos com pesquisa de *Plasmodium*, 70% eram do sexo masculino e 30% do sexo feminino.

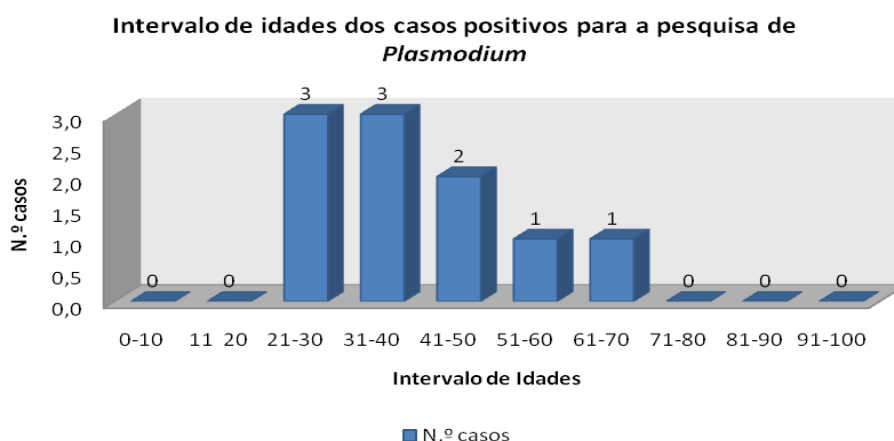
Para estes 187 casos verificou-se uma maior predominância de idades compreendidas entre os 31 e 70 anos, variando a faixa etária entre 1 e 93 anos de idade (Gráfico 4).



**Gráfico 4:** Estudo da população relativamente às idades.

Dos 10 casos clínicos positivos para a pesquisa de *Plasmodium*, 90% eram do sexo masculino e 10% do sexo feminino.

Nos 10 casos positivos para a pesquisa de *Plasmodium*, observou-se uma maior incidência em idades compreendidas entre os 21 e 40 anos, variando a faixa etária entre 21 e 61 anos de idade (Gráfico 5)



**Gráfico 5:** Estudo dos 10 casos positivos para a pesquisa de *Plasmodium* relativamente às idades.



Nos 10 casos positivos para a pesquisa de *Plasmodium*, os doentes apresentaram uma variedade de sintomas, que se encontram descritos na tabela seguinte (Tabela 3):

**Tabela 3.** Sintomatologia dos doentes com *Plasmodium*

	Síndrome Febril	Vómitos	Mal-estar generalizado	Náuseas	Dejecções diarreicas
Caso nº 1	X	X			
Caso nº 2	X				
Caso nº 3	X	X	X		
Caso nº 4	X		X		
Caso nº 5	X	X	X		
Caso nº 6	X	X		X	X
Caso nº 7	X	X		X	X
Caso nº 8	X				
Caso nº 9	X	X	X		X
Caso nº 10	X			X	X

### 3.3. Resultados hematológicos e bioquímicos dos casos clínicos positivos

Os resultados abaixo apresentados referem-se aos 10 casos positivos para a pesquisa de *Plasmodium*.

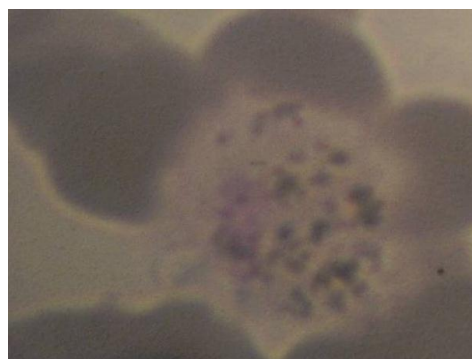
#### CASO CLÍNICO nº 1

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: estadia em África.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril e vômitos.
- ✓ Tratamento: quinino

Tabela 4. Resultados analíticos do caso clínico número 1

	D0* s/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	11.0 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$3.49 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$23 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	168 U /L	10 – 37 U/L
ALT	134 U /L	30 – 65 U/L
LDH	789 U /L	100 – 190 U/L
BILT	2.50 mg/dl	<1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva	-

\*D0 - Dia de entrada do paciente no HIDP.



**Figura 22.** ESP do caso clínico número 1 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: eritrócitos parasitados por formas de esquizonte de *Plasmodium*.

O paciente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Efectuou análises que revelaram sinais de hemólise e trombocitopenia (Hb, GV e PLT marcadamente abaixo do intervalo de referência) e alterações acentuadas a nível bioquímico (AST, ALT, LDH e BILT encontravam-se significativamente aumentados tendo em conta o intervalo de referência). A pesquisa de *Plasmodium* foi positiva e a forma observada no ESP foi a de esquizonte (forma intermédia do ciclo de vida do parasita no eritrócito). Não se efectuou a percentagem de parasitémia. Posteriormente foi identificado a espécie de *Plasmodium*, tratando-se de *P. falciparum* (análises efectuadas nos Hospitais da Universidade de Coimbra -HUC). O doente ficou internado e nesse mesmo dia iniciou terapêutica com quinino. Não realizou posteriormente análises, portanto não se pode concluir acerca da evolução do estado clínico.

**CASO CLÍNICO nº 2**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: paciente que regressou da Guiné-Bissau cinco dias antes da ida ao hospital, os sintomas apareceram no dia da chegada
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril
- ✓ Tratamento: associação de sulfato de quinino + doxiciclina

Tabela 5. Resultados analíticos do caso clínico número 2

	D0 s/tratamento	D0 s/tratamento	D2* c/tratamento	D5* c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	14.4 g/dl	14.0 g/dl	13.5 g/dl	13.0 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$4.65 \times 10^{12}/L$	$4.60 \times 10^{12}/L$	$4.36 \times 10^{12}/L$	$4.23 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$75 \times 10^9/L$	$70 \times 10^9/L$	$78 \times 10^9/L$	$127 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	49 U/L	52 U/L	39 U/L	31 U/L	10 – 37 U/L
ALT	113 U/L	113 U/L	114 U/L	87 U/L	30 – 65 U/L
LDH	210 U/L	214 U/L	198 U/L	220 U/L	100 – 190 U/L
BILT	1.50 mg/dl	-	2.24 mg/dl	1.40 mg/dl	<1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Negativa	Positiva Parasitemia: 0.5%	Positiva	Negativa	-

\*D2 e D5 - Dias de internamento do paciente no HIDP.



**Figura 23.** ESP do caso clínico número 2 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: escassos eritrócitos parasitados por formas de trofozoíto em forma de anel de *Plasmodium*.

O paciente deu entrada pela primeira vez em SU (D0) com o quadro clínico referido anteriormente. Em D0 fez exames laboratoriais hematológicos (Hb e GV normais; PLT ligeiramente baixas relativamente ao intervalo de referência) e bioquímicos (AST, ALT, LDH, BILT ligeiramente aumentados tendo em conta o intervalo de referência), no entanto, não mostraram alterações significativas. Na primeira amostra em D0 é de salientar que a pesquisa de *Plasmodium* foi negativa. Após 8h foi requisitada nova pesquisa cujo resultado já foi positivo e a forma observada no ESP foi a forma de trofozóito (forma inicial do ciclo de vida do parasita no eritrócito) com uma parasitémia de 0,5%. Tendo em conta a percentagem de parasitémia o paciente eventualmente encontrava-se num estado inicial da doença.

Em D2 e D5 o paciente efectuou novamente exames laboratoriais, que de um modo geral, não apresentaram alterações notórias relativamente a D0. A alteração mais significativa entre D0 e D5 foi o aumento significativo das PLT. É de referir que a pesquisa de *Plasmodium* em D5 já foi negativa, podendo-se verificar que o tratamento possivelmente foi o mais adequado. Relativamente à pesquisa de *Plasmodium* em D0 ser negativa e passado 8 horas já ser positiva, pode dever-se ao facto da parasitémia ser muito baixa ou não ter ocorrido a descarga de merozóitos dos focos exo-eritrocíticos para a corrente sanguínea.

**CASO CLÍNICO nº 3**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: paciente residente em Angola, sem profilaxia de malária.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril, mal-estar geral, vômitos com evolução de três dias.
- ✓ Tratamento: associação de sulfato de quinino + doxiciclina

Tabela 6. Resultados analíticos do caso clínico número 3

	D0 s/tratamento	D4 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	15.0 g/dl	10.7 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$4.93 \times 10^{12}/L$	$3.47 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$41 \times 10^9/L$	$35 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	105 U/L	292 U/L	10 – 37 U/L
ALT	76 U/L	227 U/L	30 – 65 U/L
LDH	587 U/L	1029 U/L	100 – 190 U/L
BILT	1.99 mg/dl	1.89 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva Parasitemia: 8.8%	Positiva Parasitemia: 0.2%	-



**Figura 24.** ESP do caso clínico número 3 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: frequentes eritrócitos parasitados por formas de gametócitos de *Plasmodium falciparum*.

O doente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Fez exames laboratoriais hematológicos (Hb e GV normais; PLT significativamente baixas relativamente ao intervalo de referência) e bioquímicos (AST, ALT, LDH, BILT aumentados tendo em conta o intervalo de referência). A pesquisa de *Plasmodium* foi positiva, a forma observada foi a de trofozóito e gametócito (forma do ciclo de vida do parasita no eritrócito que aparece após várias multiplicações assexuadas) com uma parasitémia de 8,8%. Tendo em conta a percentagem de parasitémia o paciente eventualmente poderia estar num estado avançado da doença. Pela observação do esfregaço concluiu-se que a espécie em causa tratava-se de *P. falciparum*, uma vez que a forma observada foi de gametócito em forma crescente, característica exclusiva desta espécie. Neste mesmo dia o doente foi internado, iniciou terapêutica com sulfato de quinino e doxiciclina e nos primeiros dias manteve o quadro clínico.

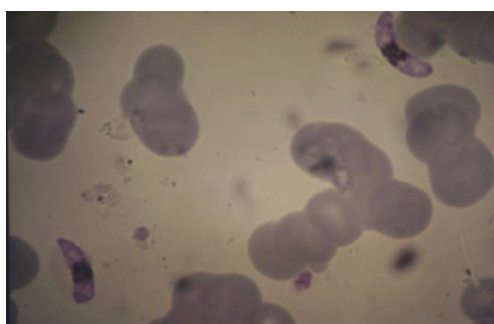
Em D4 fez análises de controlo onde se verificou para a maioria dos parâmetros alterações significativas em relação a D0. É de salientar que em D4 a percentagem de parasitémia foi apenas 0,2%, o que demonstra uma evolução favorável, concluindo-se que o tratamento terá sido eficaz.

**CASO CLÍNICO nº 4**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: viagem de férias à Guiné, diagnóstico com suspeita de malária.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril e mal-estar.
- ✓ Tratamento: sem informação no SAM

Tabela 7. Resultados analíticos do caso clínico número 4

	D0 s/tratamento	D6 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	13.6 g/dl	9.1 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$4.34 \times 10^{12}/L$	$3.09 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$10 \times 10^9/L$	$96 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	186 U/L	107 U/L	10 – 37 U/L
ALT	71 U/L	133 U/L	30 – 65 U/L
LDH	1346 U/L	767 U/L	100 – 190 U/L
BILT	3.30 mg/dl	1.00	< 1.10 mg/dl
UR	<b>53.0</b> mg/dl	<b>17.9</b> mg/dl	10 – 50 mg/dl
CR	<b>1.3</b> mg/dl	<b>0.8</b> mg/dl	0.6 – 1.2 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva Parasitemia: 13.4%	Negativa	-



**Figura 25.** ESP do caso clínico número 4 - observação microscópica do E.SP, corado por Giemsa: numerosos eritrócitos parasitados por formas de gametócitos de *Plasmodium falciparum*.



O doente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Tendo em conta o hemograma realizado em D0, os níveis de Hb estavam normais, os GV discretamente diminuídos e as PLT significativamente baixas em relação ao intervalo de referência. Os parâmetros bioquímicos (AST, LDH, BILT), encontravam-se acentuadamente aumentados em relação aos intervalos de referência. Neste caso é de salientar que a UR e CR apresentavam valores acima dos intervalos de referência, o que é característico de um estado mais avançado da doença. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi positiva com observação da forma de trofozoítos e gametócitos (forma do ciclo de vida do parasita no eritrócito que aparece após várias multiplicações assexuadas), com uma percentagem de parasitémia de 13.4 %. O doente ficou internado sem qualquer informação disponível referente ao seu tratamento.

Em D6 fez análises de controlo onde se verificou para a maioria dos parâmetros alterações significativas em relação a D0. Em D6 a Hb e os GV encontravam-se significativamente diminuídos, enquanto que nas PLT se verificou um acentuado aumento e a maioria dos valores observados para parâmetros bioquímicos diminuiu em relação a D0. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP em D6 foi negativa, podendo concluir-se que o tratamento terá sido eficaz.

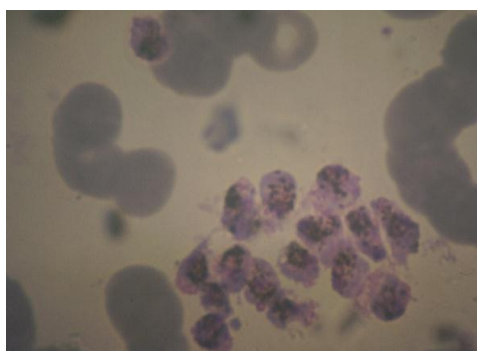
Tendo em conta, a percentagem de parasitémia e principalmente a discreta elevação dos valores de CR e UR pode-se afirmar que o paciente se encontrava num estado avançado da doença. Pela observação do esfregaço concluiu-se que a espécie em causa era de *P. falciparum*, uma vez que a forma observada foi de gametócito em forma crescente.

**CASO CLÍNICO nº 5**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: viagem de férias a África, sem profilaxia de malária.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril, vômitos, mal-estar geral.
- ✓ Tratamento: associação de quinino + doxiciclina

Tabela 8. Resultados analíticos do caso clínico número 5

	D0 s/tratamento	D5 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	12.5 g/dl	9.1 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$4.05 \times 10^{12}/L$	$3.05 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$13 \times 10^9/L$	$92 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	159 U/L	110 U/L	10 – 37 U/L
ALT	105 U/L	136 U/L	30 – 65 U/L
LDH	929 U/L	774 U/L	100 – 190 U/L
BILT	2.01 mg/dl	1.07 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva Parasitemia: 3.6%	Negativa	-



**Figura 26.** ESP do caso clínico número 5 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: frequentes eritrócitos parasitados por formas de esquizontes de *Plasmodium*.

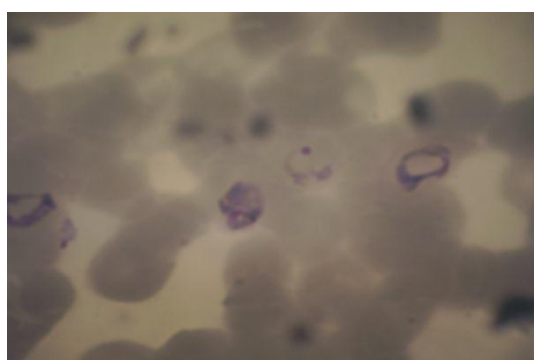
O doente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Efectuou análises que mostraram alterações ligeiras a nível de Hb e GV, com trombocitopenia marcada e pesquisa de *Plasmodium* positiva com observação da forma de trofozóito e esquizonte (forma intermédia do ciclo de vida do parasita no eritrócito), com uma percentagem de parasitémia de 3.6 %. Tendo em conta, a percentagem de parasitémia, pode-se afirmar que o paciente se encontrava num estado avançado da doença. A nível de parâmetros bioquímicos em D0 estes estavam muito elevados em relação ao intervalo de referência. Neste mesmo dia o doente foi internado e iniciou terapêutica com quinino e doxiciclina. Em D5 fez análises de controlo verificando-se, para os parâmetros hematológicos alterações significativas em relação a D0 (Hb e GV. significativamente diminuídos e as PLT acentuadamente aumentadas). Os parâmetros bioquímicos, de um modo geral, mantiveram-se semelhantes a D0, salientando apenas uma diminuição acentuada da BILT. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi negativa, concluindo-se que o tratamento terá sido eficaz.

**CASO CLÍNICO nº 6**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: viagem a África, sem profilaxia de malária.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril, vômitos, náuseas e diarreia.
- ✓ Tratamento: sem informação no SAM

Tabela 9. Resultados analíticos do caso clínico número 6

	D0 s/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	13.3 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$4.29 \times 10^{12}$ /L	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}$ /L
PLT	$17 \times 10^9$ /L	$150 - 500 \times 10^9$ /L
AST	39 U/L	10 – 37 U/L
ALT	56 U/L	30 – 65 U/L
LDH	392 U/L	100 – 190 U/L
BILT	4.31 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva	-



**Figura 27.** ESP do caso clínico número 6 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: eritrócitos parasitados por formas de trofozoítio em forma de anel de *Plasmodium*.

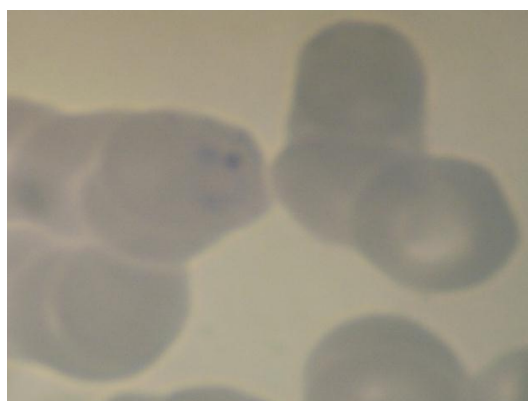
O paciente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Efectuou análises em D0 que revelaram algumas alterações a nível hematológico (Hb sem alterações, GV ligeiramente diminuídos e PLT marcadamente baixas em relação aos intervalos de referência) e bioquímico (AST e ALT sem alterações enquanto a LDH e BILT encontravam-se aumentadas significativamente em relação aos intervalos de referência). A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi positiva, observando-se a forma de trofozóito (forma inicial do ciclo de vida do parasita no eritrócito). A percentagem de parasitémia não foi determinada. Posteriormente foi identificado a espécie de *Plasmodium* tratando-se de *P. falciparum* (análises efectuadas nos HUC). O doente não realizou posteriormente análises, pelo que não se pode concluir nada acerca da evolução do seu estado clínico.

**CASO CLÍNICO nº 7**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: regresso recentemente de Angola, não fez profilaxia anti-malária.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril, diarreia, náuseas, vômitos.
- ✓ Tratamento: associação de quinino + doxiciclina

Tabela 10. Resultados analíticos do caso clínico número 7

	D0 s/tratamento	D4 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	16.5 g/dl	12.2 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$5.41 \times 10^{12}/L$	$4.03 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$20 \times 10^9/L$	$72 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	45 U/L	59 U/L	10 – 37 U/L
ALT	86 U/L	59 U/L	30 – 65 U/L
LDH	439 U/L	469 U/L	100 – 190 U/L
BILT	4.12 mg/dl	2.23 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva	Negativa	-



**Figura 28.** ESP do caso clínico número 7 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: eritrócitos parasitados por formas de trofozoíto em forma de anel de *Plasmodium*.

O paciente deu entrada pela primeira vez em SU com o quadro clínico referido anteriormente. Fez exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos que mostraram trombocitopenia marcada, elevação discreta de transaminases (AST e ALT) e elevação acentuada de BILT e LDH, tendo em conta o intervalo de referência. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi positiva com observação do parasita na forma de trofozóito (forma inicial do ciclo de vida do parasita no eritrócito). A percentagem de parasitémia não foi determinada. Posteriormente foi identificada a espécie de *Plasmodium* tratando-se de *P. falciparum* (análises efectuadas nos HUC). Pode-se sugerir que em D0 o doente estaria numa fase inicial da doença, uma vez que não se verificou uma destruição maciça de GV (Hb normal).

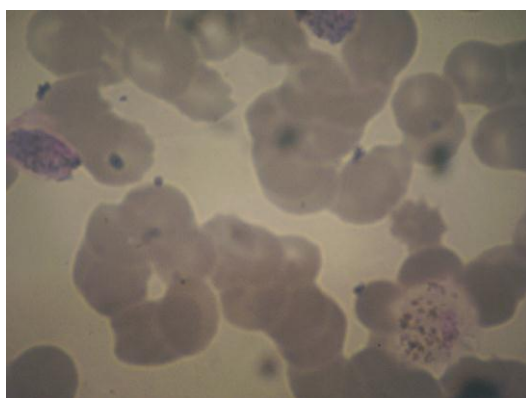
Em D4, depois de alguns dias de tratamento o paciente apresentava valores de GV, Hb, BILT e ALT muito diminuídos em relação a D0. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi negativa, concluindo-se que o tratamento terá sido eficaz.

**CASO CLÍNICO nº 8**

- ✓ Sexo: Feminino
- ✓ Informação Adicional: regresso de uma viagem de férias a África.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril
- ✓ Tratamento: associação de quinino + doxiciclina

Tabela 11. Resultados analíticos do caso clínico número 8

	D0 s/tratamento	D5 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	12.0 g/dl	10.9 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$3.96 \times 10^{12}/L$	$3.64 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$27 \times 10^9/L$	$303 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	46 U/L	42 U/L	10 – 37 U/L
ALT	50 U/L	69 U/L	30 – 65 U/L
LDH	417 U/L	635 U/L	100 – 190 U/L
BILT	2.62 mg/dl	1.36 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva	Negativa	-



**Figura 29.** ESP do caso clínico número 8 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: eritrócitos parasitados por formas de esquizonte de *Plasmodium*.



O doente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Efectuou análises cujos resultados mostraram baixa nos níveis de Hb e GV, uma trombocitopenia marcada e um aumento nos níveis de LDH e BILT tendo em conta o intervalo de referência. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi positiva com observação da forma de esquizonte (forma intermédia do ciclo de vida do parasita no eritrócito). A percentagem de parasitémia não foi determinada. Neste mesmo dia o doente foi internado e iniciou terapêutica com quinino e doxiciclina. Em D5 fez análises de controlo aos parâmetros hematológicos (Hb e GV com ligeiras alterações e nas PLT verificou-se um acentuado aumento de forma a que os seus níveis se tornassem normais) e parâmetros bioquímicos, que, de um modo geral, se mantiveram semelhantes a D0, salientando-se apenas uma diminuição acentuada de BILT. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi negativa, concluindo-se que o tratamento terá sido eficaz.

**CASO CLÍNICO nº 9**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: regresso de Angola dois dias antes da ida ao hospital, onde residia por motivos laborais, não efectuou qualquer vacinação ou profilaxia.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril, mal-estar geral, vómitos, diarreia e sem alterações do abdómen.
- ✓ Tratamento: associação de quinino + doxiciclina

Tabela 12. Resultados analíticos do caso clínico número 9

	D0 s/tratamento	D1 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	13.9 g/dl	12.7 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$5.12 \times 10^{12}/L$	$4.68 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$55 \times 10^9/L$	$69 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	15 U/L	18 U/L	10 – 37 U/L
ALT	21 U/L	20 U/L	30 – 65 U/L
LDH	451 U/L	403 U/L	100 – 190 U/L
BILT	2.02 mg/dl	1.29 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Positiva	Positiva	-



**Figura 30.** ESP do caso clínico número 9 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: eritrócitos parasitados por formas de trofozóito em forma de anel de *Plasmodium*.

O doente recorreu ao SU com o quadro clínico referido anteriormente. Efectuou análises que revelaram valores normais para a Hb e os GV e trombocitopenia. Os parâmetros bioquímicos apresentaram valores aumentados de LDH e BILT. A pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi positiva com observação do parasita na forma de trofozóito (forma inicial do ciclo de vida do parasita no eritrócito). A percentagem de parasitémia não foi determinada. Posteriormente foi identificada a espécie de *Plasmodium* tratando-se de *P. falciparum* (análises efectuadas nos HUC). O paciente foi internado e iniciou tratamento com quinino + doxiciclina.

Em D1 efectuou análises de controlo, que não mostraram alterações em relação a D0 para a maioria dos parâmetros, observando-se, no entanto, uma melhoria particularmente a nível da BILT. Sugere-se que neste caso o doente estaria num estado inicial da doença, tendo em conta os seus resultados analíticos. Como o doente só repetiu análises em D1 não se pode concluir nada acerca da evolução do seu estado clínico.

**CASO CLÍNICO nº 10**

- ✓ Sexo: Masculino
- ✓ Informação Adicional: emigrante em África, doente com antecedentes de malária ± 20 dias antes da ida ao hospital tendo feito 7 dias de tratamento com quinimax.
- ✓ Quadro Clínico: síndrome febril (aparecimento recente), náuseas e dejecções diarreicas.
- ✓ Tratamento: associação de sulfato de quinina + doxiciclina

Tabela 13. Resultados analíticos do caso clínico número 10

	D0 s/tratamento	D4 s/tratamento	D9 c/tratamento	Intervalo de Referência
Hb	13.8 g/dl	12.7 g/dl	11.2 g/dl	13.0 – 18.0 g/dl
GV	$4.21 \times 10^{12}/L$	$3.98 \times 10^{12}/L$	$3.49 \times 10^{12}/L$	$4.50 - 6.50 \times 10^{12}/L$
PLT	$130 \times 10^9/L$	$49 \times 10^9/L$	$94 \times 10^9/L$	$150 - 500 \times 10^9/L$
AST	23 U/L	31 U/L	20 U/L	10 – 37 U/L
ALT	50 U/L	56 U/L	38 U/L	30 – 65 U/L
LDH	179 U/L	222 U/L	192 U/L	100 – 190 U/L
BILT	-	-	0.45 mg/dl	< 1.10 mg/dl
Pesquisa <i>Plasmodium</i>	Negativa	Positiva	-	-

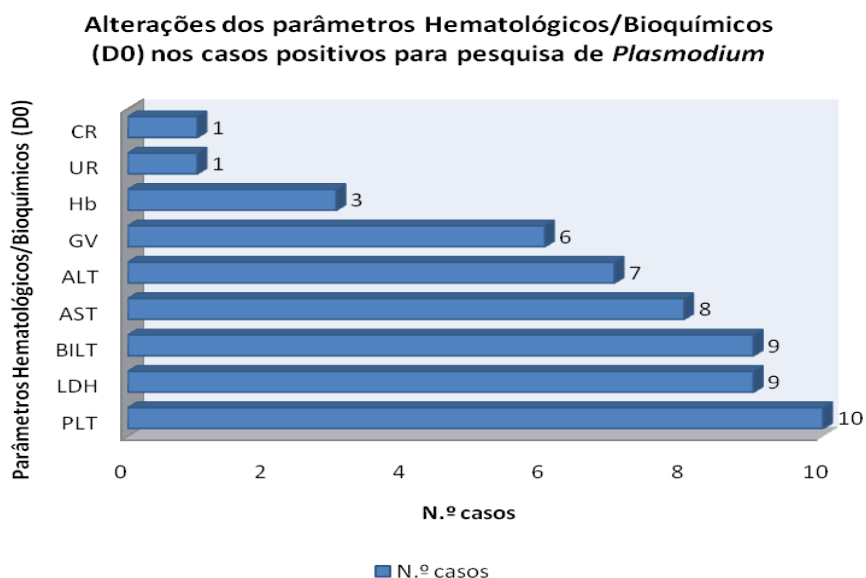


**Figura 31.** ESP do caso clínico número 10 - observação microscópica do ESP, corado por Giemsa: eritrócitos parasitados por formas de trofozóito em forma de anel de *Plasmodium*.

O paciente deu entrada em SU com suspeita de gripe e pneumonia. Fez exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos em D0, os quais não demonstravam alterações significativas em relação aos valores de referência. Como o paciente era emigrante em África e já tinha antecedentes de malária foi-lhe requisitada a pesquisa de *Plasmodium* no ESP, cujo resultado foi negativo, tendo o doente alta clínica nesse dia.

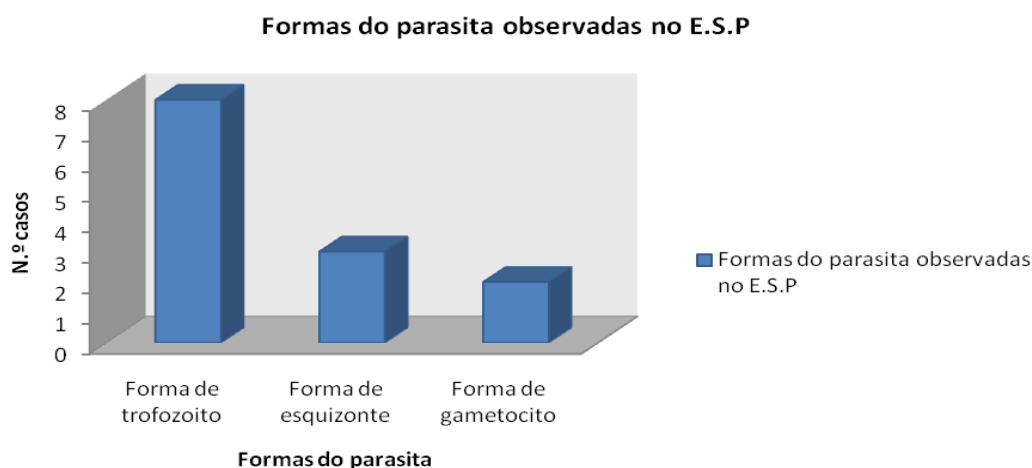
Em D4 o paciente regressou ao SU com suspeita de malária. Efectuou novamente exames laboratoriais os quais apresentavam ligeiras alterações relativamente a D0. Em D4 a pesquisa de *Plasmodium* no ESP foi positiva, com observação do parasita na forma de trofozóito (forma inicial do ciclo de vida do parasita no eritrócito). Posteriormente foi identificada a espécie tratando-se de *P. falciparum* (análises efectuadas no HUC). O facto de a pesquisa de *Plasmodium* no ESP em D0 ser negativa e em D4 positiva, pode dever-se ao facto de em D0 não ter ainda ocorrido a descarga de merozóitos dos focos exo-eritrocíticos para a corrente sanguínea. Por outro lado, dada a história clínica do doente com antecedentes de malária, poderá presumir-se que o paciente teve uma recaída em D4, eventualmente pelo tratamento anterior a D0 não ter sido eficaz.

Analisando os resultados obtidos para os parâmetros hematológicos e bioquímicos (D0) em doentes com *Plasmodium*, pode-se verificar que mostraram alterações. Os valores de PLT obtidos apresentaram-se em todos os casos abaixo do intervalo de referência, enquanto os valores de CR e UR só apresentaram alterações num único caso (Gráfico 6).



**Gráfico 6:** Número de casos com pesquisa de *Plasmodium* positiva, com alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Tendo em conta os resultados obtidos com pesquisa de *Plasmodium* positiva, verifica-se ainda que a forma do parasita mais frequentemente encontrada no ESP é a forma de trofozoíto (Gráfico 7).



**Gráfico 7:** Formas do parasita observadas no ESP.

## **Capitulo 4**

### **DISCUSSÃO**

## 4. DISCUSSÃO

Com este trabalho pretendeu-se avaliar a incidência de malária na Região de Aveiro, estudando a evolução dos casos de doença nos últimos anos, a forma como a doença é importada e avaliando a importância do diagnóstico laboratorial. Este conhecimento é útil para evitar a propagação da doença na população, uma vez que Portugal nomeadamente a Região de Aveiro (bacia do Vouga) foi na década de 50 (d'Eça, 1903) uma zona endémica de malária e poderá a curto prazo reunir todas as condições propícias ao ressurgimento de novos mosquitos *Anopheles* que são os vectores de transmissão da malária. Existe também a preocupação de conter os casos importados de malária uma vez que Portugal possui o vector *Anopheles maculipennis* com importância na incidência da malária (Capinha et al., 2009) .

Segundo alguns estudos (Patz et al., 1996; Githeko et al., 2000; McMichael, 2001) as alterações climáticas, como o aquecimento global, as chuvas e as inundações, poderão contribuir para o aparecimento de doenças infecciosas humanas, incluindo a malária, o que exigirá uma cooperação interdisciplinar entre os médicos, meteorologistas, biólogos e cientistas com o objectivo de otimizar estratégias de prevenção e alertar para a redistribuição da doença de forma a que o diagnóstico seja feito o mais atempadamente possível. Estudos recentes (Capinha et al., 2009) mostram que em Portugal tem ocorrido aumentos de temperatura na ordem de 0,5 °C por década desde 1975. Este aumento da temperatura poderá contribuir para o ressurgimento de novos vectores e por outro lado contribuir também para que os vectores já existentes em Portugal consigam completar o ciclo esporogónico do parasita e assim transmitirem a doença. Por outro lado, alterações do meio ambiente como, a construção de pequenas represas de água (barragens) também podem contribuir para o reaparecimento do mosquito. O aumento das resistências aos medicamentos anti-maláricos por parte do parasita, assim como, o aumento das resistências dos mosquitos aos insecticidas, os problemas políticos, as perturbações sócio-económicas e o aumento das viagens internacionais a zonas endémicas de malária, são factores que podem contribuir para o aumento do número de casos clínicos de malária importados de zonas endémicas podendo levar à disseminação



progressiva da doença a nível mundial e, nomeadamente em Portugal (Sachs et al., 2002). Durante os 4 anos de estudo, dos 187 casos indicados para detecção de malária no HIDP, 5% foram positivos para a pesquisa de *Plasmodium*. Apesar de 5% ser uma parte diminuta da população estudada é de salientar que ao longo dos 4 anos de estudo se verificou um aumento dos casos positivos. Estudos realizados em outros países da União Europeia referem um aumento do número anual de casos importados na última década tendo sido estabelecida uma relação com o aumento do número de viajantes internacionais (Romi et al., 2001). A incidência da malária nos casos estudados foi maior em homens e idades compreendidas entre 21 e 40 anos que tinham viajado ou vivido em países Africanos. Estes resultados estão concordantes com os dados obtidos no estudo da caracterização epidemiologia da malária na Região Norte de Portugal (Castro, 2004) e de igual modo em estudos semelhantes realizados em Itália (Romi et al., 2001). Os doentes com pesquisa de *Plasmodium* positiva apresentaram uma variedade de sintomas, dos quais os mais frequentes foram o síndrome febril e vómitos. É de referir que em todos os casos positivos para a pesquisa de *Plasmodium* a espécie detectada foi *P. falciparum*, o que é consistente com outros estudos efectuados em Portugal e na União Europeia (Romi et al., 2001; Castro, 2004). Esta espécie é a mais perigosa e, conseqüentemente, é importante que o diagnóstico seja feito o mais precocemente possível. Na maioria dos casos o tratamento administrado foi a combinação de quinina com doxiciclina. Como os casos estudados, eram oriundos de países Africanos (trópicos) a possibilidade do parasita *P. falciparum* possuir resistências à cloroquina poderia ser elevada (Pires et al., 2001; Vale, 2005), daí a substituição do composto administrado por doxiciclina em associação com a quinina. Esta associação de fármacos é a que é mais aconselhada em Portugal para estes casos (Germano, 2005).

Os resultados obtidos nos casos positivos para *Plasmodium* mostraram alterações de alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos. A maioria dos casos positivos mostrou alterações nos parâmetros que avaliam a função hepática (Kasper, 2004), indicando lesão que, em parte, pode ser devida ao alojamento do parasita neste órgão. Os valores de transaminases (ALT e AST), BILT e de LDH estavam aumentados em relação aos valores de referência. Por outro lado, o aumento do número de parasitas na corrente sanguínea

provoca uma diminuição do valor dos GV e da Hb devido não só à rotura das células parasitadas mas também à lise das intactas, provocando assim a hemólise que é caracterizada pelo aumento de BILT e da LDH. Em doentes com malária é característico o aumento de tamanho do baço (esplenomegalia), tendo este órgão a função de produzir, controlar, armazenar e destruir células sanguíneas. Quando o baço capta uma grande quantidade de células sanguíneas anormais, estas obstruem-no e interferem no seu funcionamento, levando ao aumento de volume. O volume aumentado do baço leva à captura de células normais que são destruídas juntamente com as células anormais, levando desde modo à diminuição dos parâmetros hematológicos Hb, GV e PLT. Através dos resultados obtidos pode-se verificar que de uma maneira geral em D0, os parâmetros hematológicos encontram-se diminuídos e os parâmetros bioquímicos encontram-se aumentados em relação aos intervalos de referência.

Com estudo realizado, verifica-se que em Portugal, mais concretamente na Região de Aveiro, os casos importados de malária tem vindo a apresentar uma tendência crescente ao longo dos 4 anos de estudo, o que se reflecte na importância para que o diagnóstico laboratorial seja feito o mais precocemente possível de forma a evitar o eventual surgimento de novos casos de malária em zonas não endémicas, a partir de casos de malária importados.

Embora os estudos de incidência e evolução da malária, associados com o diagnóstico precoce e o uso de quimioterapia, ajudem a controlar a malária, a sua erradicação só será conseguida através do uso de uma vacina eficaz. A complexidade do ciclo de vida do parasita e a sua versatilidade biológica têm sido os principais obstáculos ao desenvolvimento da vacina.

**Capitulo 5**  
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Braga, J. M. (1931). "Culicideos de Portugal." A. e. Sobrinho. Porto: 74-77.
- Braga, M. D., G. C. Alcantara, et al. (2004). "Cerebral Malaria in Ceara: a case report." Rev Soc Bras Med Trop **37**(1): 53-5.
- Buitrago, J. M. G. (2004). "Técnicas y métodos de Laboratorio Clínico." Barcelona, Masson, S.A.: 509-510.
- Capinha, C., E. Gomes, et al. (2009). "Present habitat suitability for *Anopheles atroparvus* (Diptera, Culicidae) and its coincidence with former malaria areas in mainland Portugal." Geospat Health **3**(2): 177-87.
- Caquet, R. (2004). "Guia Prático de Análises Clínicas." Lisboa, Climepsi: 257;365-366.
- Castro, L. C., A.I.; Queirós, L.; Gonçalves, G. (2004). "Malária na Região Norte de Portugal (1993-2002) Caracterização Epidemiológica." Acta Méd Port **17**: 291-298.
- Cerezo, A. C. M., Miguel A. Garcia; (2009). "Laboratorio y enfermedad. Casos Clínicos." Madrid, Asociación Española de Biopatología Médica: 65-71.
- Coatney, R. G., W. E. Collins, et al. (1971). "The Primate Malaria." Washington DC U.S, Government Printing Office.
- d'Eça, M., M.,M.,C.,A., (1903). Breves considerações sobre "A Etiologia e a Transmissão do Sezonismo." Aveiro: 17-19.
- Faust, E. C., Beaver,P.C., Jung,R.C. (1975). "Agentes e Vectores Animais de Doenças Humanas.", Fundação Caloust Gulbenkian: 134-161.
- Ferraz, R. J. V. (2002). "Quimioterapia da Malária: Síntese de Duplos pró-Fármacos da Primaquina." Química. Porto, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: 1-61.
- Ferreira, F. A. (1982). "Moderna Saúde Pública.", Fundação Calouste Gulbenkian: 967-972.
- Forbes, B. A., D. F. Sahm, et al. (1998). "Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology." Moshby: 806-45.
- Germano, N. M., R. P.; Murinello, A. (2005). "Adequação dos fármacos antimaláricos na quimioprofilaxia e tratamento da malária em países não endêmicos." Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna **12**: 165-170.

- Githeko, A. K., S. W. Lindsay, et al. (2000). "Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis." Bull World Health Organ **78**(9): 1136-47.
- Hay, S. I., C. A. Guerra, et al. (2004). "The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future." Lancet Infect Dis **4**(6): 327-36.
- Kasper, D. L. B., E.; Hauser, S.; Longo, D; Jameson, J. L.; Fauci, A. S.; ( 2004). "Harrison's Principles of Internal Medicine." McGraw-Hill.
- Kouyate, B., A. Sie, et al. (2007). "The great failure of malaria control in Africa: a district perspective from Burkina Faso." PLoS Med **4** (6): e127.
- Lewis, S. M. B., J. Barbara; Bates, Imelda; (2001). "Dacie and Lewis, Practical Haematology." London, Churchill Livingstone: 54-60; 537-538.
- McMichael, A. J. (2001). "Health consequences of global climate change." J R Soc Med **94**(3): 111-4.
- Ministério Saúde, B. (2005). "Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária - Brasília." 1ª Edição. from [www.saude.gov.br/svs](http://www.saude.gov.br/svs).
- Patz, J. A., P. R. Epstein, et al. (1996). "Global climate change and emerging infectious diseases." JAMA **275**(3): 217-23.
- Pires, A., A. Borges, et al. (2001). "Malaria and Kidney." Medecina Interna **8**(2): 95-100.
- Romi, R., G. Sabatinelli, et al. (2001). "Malaria epidemiological situation in Italy and evaluation of malaria incidence in Italian travelers." J Travel Med **8**(1): 6-11.
- Rosas, M. J. (2003). "Prevenção da Malaria" Revista Portuguesa de Clínica Geral **19**: 263-6.
- Sachs, J. and P. Malaney (2002). "The economic and social burden of malaria." Nature **415**(6872): 680-5.
- Saez-Alquezar, A., A. M. Ramos, et al. (1998). "Control of blood transfusion malaria in an endemic and in a non-endemic region in Brazil." Rev Soc Bras Med Trop **31**(1): 27-34.
- Schlesinger, P. H., D. J. Krogstad, et al. (1988). "Antimalarial agents: mechanisms of action." Antimicrob Agents Chemother **32**(6): 793-8.
- Theml, H. D., Heinz; Haferlach, Torsten; (2004). "Color atlas of hematology: practical microscopic and clinical diagnosis." Thieme Flexibook: 158-161.

Vale, N. F. S. (2003). "Estudo da síntese de 4-imidazolidinonas da primaquina derivadas do glioxilato de etilo." Química. Porto, Faculdade de Ciências 1-97.

Vale, N. M., Rui; Gomes, Paula; (2005). "Quimioterapia da Malária." Faculdade de Ciências da Universidade do Porto 57-69.

Wilson, E. (2009). "Phase 3 malaria vaccine trial begins- final testing of RTS,S." from [www.malariavaccine.org](http://www.malariavaccine.org).